

Aus der Klinik für Anästhesie und Intensivtherapie
Direktor: Prof. Dr. med. H. Wulf

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Untersuchung zur Korrelation von
HLA-DR-Expression, Procalcitonin und Interleukin 6
mit dem Krankheitsverlauf sowie ihrer Eignung zur
Risikostratifizierung bei Patienten mit Sepsis**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Florian Schumann
aus Siegburg

Marburg, 2011

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am 18.08.2011.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. M. Rothmund

Referent: PD Dr. M. Max

Korreferent: PD Dr. H. G. Wahl

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1 Definition	2
1.2 Epidemiologie	4
1.2.1 Inzidenz	4
1.2.2 Kosten.....	4
1.2.3 Mortalität.....	4
1.3 Diagnose der Sepsis	6
1.3.1 Interleukin 6	6
1.3.2 Procalcitonin.....	7
1.3.3 Humanes Leukozyten Antigen (HLA-DR)	8
1.4 Therapie	10
1.5 Fragestellungen	11
1.5.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf	11
1.5.2 Risikostratifizierung	11
1.6 Zusammenfassung	12
2. Patienten und Methoden	13
2.1 Patienten - Ein- und Ausschlusskriterien	13
2.2 Methoden	16
2.2.1 Tägliche Untersuchungen.....	16
2.2.2 Blutabnahme.....	16
2.2.3 Geräte und Reagenzien.....	16
2.2.3.1 Interleukin 6.....	16
2.2.3.2 Procalcitonin.....	17
2.2.3.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten.....	18
2.2.4 Statistik.....	26
2.2.4.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf.....	26
2.2.4.1.1 Zielkriterium	26

2.2.4.1.2 Einflussgrößen	26
2.2.4.1.3 Berechnungen	26
2.2.4.2 Risikostratifizierung	28
2.2.4.3 Durchführung der Berechnungen	29
3. Ergebnisse	30
3.1 Patientenkollektiv	30
3.2 Güte der Testverfahren	30
3.3 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf	33
3.3.1 Interleukin 6	33
3.3.2 Procalcitonin.....	33
3.3.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten	33
3.4 Risikostratifizierung.....	35
3.4.1 Laborparameter von Tag 2 und APACHE II-Score	35
3.4.2 Veränderung der Laborparameter von Tag 1 auf Tag 2.....	35
4. Diskussion.....	39
4.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf.....	39
4.1.1 Interleukin 6	40
4.1.2 Procalcitonin.....	40
4.1.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten	41
4.2 Risikostratifizierung.....	42
4.2.1 Interleukin 6	42
4.2.2 Procalcitonin.....	43
4.2.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten	45
4.3 Schlussfolgerung.....	49
5. Zusammenfassung	50
Literaturverzeichnis	51
Lebenslauf	57
Akademische Lehrer	58
Danksagung.....	59
Ehrenwörtliche Erklärung.....	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien.....	13
Tabelle 2: Modifizierte Kriterien der ACCP/SCCM Konsensuskonferenz.....	15
Tabelle 3: Patientenübersicht.....	30
Tabelle 4: Analytische Leistung.....	31
Tabelle 5: Korrelation der IL-6-Konzentration mit dem Krankheitsverlauf.....	36
Tabelle 6: Korrelation der PCT-Konzentration mit dem Krankheitsverlauf.....	36
Tabelle 7: Korrelation der HLA-DR-Expression mit dem Krankheitsverlauf.....	36
Tabelle 8: Univariate Analyse: Parameter von Tag 2 und APACHE II.....	37
Tabelle 9: Bivariate Analyse: IL-6 (logarithmiert) von Tag 2 und APACHE II.....	37
Tabelle 10: Bivariate Analyse: PCT von Tag 2 und APACHE II.....	37
Tabelle 11: Bivariate Analyse: HLA-DR-Expression von Tag 2 und APACHE II.....	37
Tabelle 12: Univariate Analyse: Parameterwertdifferenz zwischen Tag 1 und 2.....	38
Tabelle 13: Bivariate Analyse: Differenz der logarithmierten IL-6-Konzentration zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II	38
Tabelle 14: Bivariate Analyse: Differenz der PCT-Konzentration zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II	38
Tabelle 15: Bivariate Analyse: Differenz der HLA-DR-Expression zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II	38

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Messprinzip des Durchflusszytometers - FSC und SSC	19
Abbildung 2: Messprinzip des Durchflusszytometers - Fluoreszenzintensität	20
Abbildung 3: Messprinzip des Durchflusszytometers - Unterschiedliche Leukozyten- Populationen.....	21
Abbildung 4: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 5667,62 / Monozyt	22
Abbildung 5: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 10603,14 / Monozyt	23
Abbildung 6: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 16803,28 / Monozyt	24
Abbildung 7: Verdünnungslinearität von IL-6	32
Abbildung 8: Verdünnungslinearität von PCT.....	32

Abkürzungsverzeichnis

AaDO ₂	Alveolär-arterielle Sauerstoffdifferenz
Abb	Abbildung
ACCP	American College of Chest Physicians
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
Ak	Antikörper
ANV	Akutes Nierenversagen
APACHE	Acute physiology and chronic health evaluation
AT-III	Antithrombin-III
ATS	American Thoracic Society
AUC	Area under the curve
CPS	Counts per second
CRP	C-reaktives Protein
DIVI	Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin
DNA	Deoxyribonucleic acid
DSG	Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V.
ECMO	Extracorporeal membrane oxygenation
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Ef	Effektschätzer
ESICM	European Society of Intensive Care Medicine
EVLW	Extravasales Lungenwasser
FiO ₂	Inspiratorische O ₂ -Konzentration
FSC	Vorwärtsstreulicht
GCS	Glasgow Coma Scale
GI	Gastrointestinal
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HR	Hazard-Ratio
I:E	Inspiration:Expiration
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Da	Dalton
Ko	Konstante

MHC	Major histocompatibility complex
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NYHA	New York Heart Association
PaCO ₂	Arterieller CO ₂ -Partialdruck
PaO ₂	Arterieller O ₂ -Partialdruck
PCT	Procalcitonin
PCWP	Pulmonary capillary wedge pressure
PE	Phycoerythrin
PEEP	Positive endexpiratory pressure
PIP	Positive inspiratory pressure
PMT	Photomultiplier
ROC	Receiver operating characteristic
SaO ₂	Arterielle O ₂ -Sättigung
SAPS	Simplified acute physiology score
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SIS	Surgical Infection Society
SOFA	Sepsis-related organ failure assessment
SSC	Seitwärtsstreulicht
SvO ₂	Venöse O ₂ -Sättigung
Tab	Tabelle
TGF	Transforming growth factor
TNF	Tumornekrosefaktor
VK	Variationskoeffizient
V _t	Tidalvolumen
ZVD	Zentraler Venendruck

1. Einleitung

Als Sepsis wird eine systemische Entzündungsreaktion des Körpers auf eine Infektion bezeichnet, die mit hämatologischen, hämostasiologischen und immunologischen Veränderungen einhergeht und über zunehmende Organschäden zu einem Multiorganversagen und letztlich zum Tod führen kann (40). Die heute gebräuchliche Verwendung des Begriffs „Sepsis“ geht auf Hugo Schottmüller zurück, der mit diesem Begriff im Jahre 1914 als erster einen Zustand beschrieb, in dem sich pathogene Bakterien ausgehend von einem lokalen Infektionsherd über den gesamten Körper ausbreiten und subjektiv spürbare wie auch objektiv messbare Krankheitserscheinungen auslösen (8).

1.1 Definition

Lange Zeit fehlten einheitliche Diagnosekriterien für die unterschiedlichen Schweregrade der Sepsis, wodurch eine effektive Erforschung der Sepsis mit vergleichbaren Studienkollektiven nur eingeschränkt möglich war. Dies änderte sich im Jahre 1992 durch die „ACCP/SCCM Consensus Conference“, auf welcher klare und einheitliche Kriterien für vier unterschiedliche Grade einer systemischen Inflammationsreaktion definiert wurden. Im Rahmen der Konsensusentscheidung wurde zunächst eine systemische Inflammationsreaktion nicht-infektiöser Ursache (systemic inflammatory response syndrome = SIRS) definiert. Ein SIRS ist gekennzeichnet durch pathologische Werte bei zwei der vier folgenden Parameter: Temperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Leukozytenzahl. Besteht neben dem SIRS eine Infektion, wird dieser Zustand als Sepsis bezeichnet. Eine schwere Sepsis liegt vor, falls neben einer Sepsis eine akut in deren Rahmen aufgetretene Organfunktionsstörung existiert. Ein septischer Schock kann schließlich diagnostiziert werden, falls es im Rahmen einer schweren Sepsis trotz ausreichenden Flüssigkeitsersatzes zu einer anhaltenden arteriellen Hypotonie mit Zeichen der Minderperfusion peripherer Gewebe (z.B. Hyperlaktatämie) kommt (1).

In den darauf folgenden Jahren wurden zahlreiche klinische Studien durchgeführt, die diese Definitionen zugrunde legten. Allerdings mehrten sich Expertenforderungen nach einer Revision, u.a. weil sich die Definition des SIRS zwar durch eine gute Sensitivität auszeichnet, die Spezifität jedoch nur gering ausgeprägt ist (58).

Knapp zehn Jahre nach der ersten „ACCP/SCCM Consensus Conference“ fand die „2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference“ statt. Der geringe praktische Nutzen der Definition des SIRS wurde hier unterstrichen, sie wurde jedoch mangels geeigneterer Alternativen beibehalten. Unter diesem Aspekt wurde die weitere Erforschung von Biomarkern, wie z.B. Interleukin 6 (IL-6), Procalcitonin (PCT) oder C-reaktives Protein (CRP), gefordert, um zukünftig die klinische Diagnose eines SIRS durch den Einsatz von Laborparametern abzulösen und so die Spezifität der Diagnosestellung zu erhöhen ohne die Sensitivität zu mindern (34). Aus dem gleichen Grund empfiehlt die aktuelle S2-Leitlinie der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI) zusätzlich zum Einsatz der klinischen Sepsis-Kriterien die Bestimmung von PCT, wobei allerdings auch darauf hingewiesen wurde, dass u.a. operative Traumen ebenfalls zu einer transitorischen Erhöhung von PCT führen können (54).

Erweitert wurde auf der oben genannten Konferenz zudem die mögliche Bandbreite an Manifestationsarten der Sepsis, um dem mannigfaltigen Bild dieser Erkrankung Rechnung zu tragen und es insbesondere dem klinisch tätigen Arzt zu erleichtern, eine Sepsis zu diagnostizieren.

Des Weiteren wurde die Entwicklung eines neuen Klassifikationssystems angeregt, welches an das aus der Onkologie bekannte, von Pierre Denoix 1946 eingeführte TNM-System angelehnt ist und „PIRO“ genannt wurde:

P steht für „predisposition“, d.h. für Eigenschaften des Organismus, die schon vor der Sepsiserkrankung bestanden. Insbesondere genetischen Variabilitäten wurde hier eine stärkere Rolle zugedacht.

I steht für „infection“ und definiert den auslösenden Erreger und dessen spezifische Eigenschaften wie beispielsweise Resistenzsituation oder Toxinbildung.

R steht für „response“, womit die Ausprägung der Immunantwort des Körpers gemeint ist. Hier sind Inflammationsparameter wie PCT oder IL-6 interessant.

O steht für „organ dysfunction“, d.h. für den Grad der Organfunktionsstörung bzw. des Organversagens.

Mit diesem Klassifikationssystem wurde die Hoffnung verbunden, jeden Patienten individuell nach seinem Risikoprofil einordnen zu können, um einerseits sein individuelles Mortalitätsrisiko zu bestimmen und ihm andererseits die jeweils passende Therapie zuzuführen (34). Eine erste Studie mit 2628 Intensivpatienten, in welcher der Zusammenhang einer modifizierten „PIRO“-Klassifikation mit der Mortalität untersucht wurde, bestätigte ihre prinzipielle Eignung zur frühen Risikostratifikation (44). Es wurde hierzu das Studienkollektiv, das zur Berechnung des SAPS III - Scores diente, erneut unter Berücksichtigung einer modifizierten „PIRO“-Klassifikation ausgewertet. In einer multivariaten Analyse konnte die Wertigkeit neuer Variablen beschrieben und ein SAPS III - PIRO - Score berechnet werden. Dieser zeigte eine mit 0,772 höhere ROC als der SAPS III - Score (ROC=0,735). Eine vollständige klinische Einführung ist in absehbarer Zeit allerdings noch nicht zu erwarten.

1.2 Epidemiologie

1.2.1 Inzidenz

Die Inzidenz der Sepsis lag im Jahre 2003 in Deutschland bei 0,85-1,16/1000 Einwohnern. Bei Betrachtung aller Fälle von schwerer Sepsis und septischem Schock ergab sich eine Inzidenz von 0,76-1,1/1000 Einwohnern (7). Auf Frankreich bezogen zeigte sich im Jahre 2001 eine Inzidenz der schweren Sepsis von 0,95/1000 Einwohnern (6). In England und Wales wurde im Jahre 1997 für eine schwere Sepsis, die sich innerhalb von 24 Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation zeigte, eine Inzidenz von 0,51/1000 Einwohnern berechnet (49). In Finnland betrug 2004/2005 die Inzidenz für die schwere Sepsis 0,38/1000 Einwohnern (28). Berechnungen für Australien und Neuseeland ergaben für das Jahr 1999 eine Inzidenz der schweren Sepsis von 0,77/1000 Einwohnern (17). Für die USA konnte im Jahre 1995 für die schwere Sepsis eine Inzidenz von 3/1000 Einwohnern errechnet werden, wobei sich ein Anstieg der Inzidenz mit zunehmendem Lebensalter zeigte. Für Kinder betrug sie 0,2/1000 Einwohnern, wohingegen sie bei Personen über 85 Jahren auf 26,2/1000 Einwohnern anwuchs. Die Altersentwicklung der USA zu Grunde gelegt, gehen Angus und Kollegen durch das überdurchschnittliche Anwachsen der Zahl alter Patienten von einem jährlichen Anstieg der Inzidenz um 1,5 % aus. (3).

1.2.2 Kosten

Durch Sepsis entstehen immense Kosten für das Gesundheitssystem. Allein für die Behandlung der schweren Sepsis auf deutschen Intensivstationen werden pro Patient mittlere Kosten von 23.297 Euro veranschlagt (41). Für die USA wurden je Sepsis-Patient mittlere Gesamtkrankenhauskosten von 22.100 Dollar ermittelt (3).

1.2.3 Mortalität

Die schwere Sepsis und der septische Schock haben eine hohe Letalität. In Deutschland versterben jährlich ca. 60.000 Patienten an einer schweren Sepsis, womit diese nach dem akuten Herzinfarkt und Tumorleiden die dritthäufigste Todesursache darstellt (7). Trotz des allgemeinen medizinischen Fortschritts und intensiver Sepsisforschung stieg

die Mortalität der schweren Sepsis zwischen den Jahren 1993 und 2003 in den USA von 0,3/1000 Einwohnern auf 0,5/1000 Einwohnern (15). Der Anstieg der Mortalität ist wahrscheinlich auf die zunehmende Überalterung der Gesellschaft zurückzuführen. So berichteten Angus und Mitarbeiter, dass die Letalität der schweren Sepsis bei jüngeren Personen deutlich unter derjenigen älterer Personen liegt (10 % bei Kindern gegenüber 38,4 % bei Personen über 85 Jahre) (3).

Wie zu erwarten spielt auch der Krankheitsschweregrad für das Überleben eine wichtige Rolle. In diesem Zusammenhang konnten Rangel-Frausto und Kollegen einen wichtigen Beitrag zum Krankheitsverständnis leisten. Sie zeigten, dass das Sepsissyndrom gleich einem Krankheitskontinuum aus den verschiedenen Stadien SIRS, Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock besteht. So entwickelten 26 % der beobachteten Patienten mit SIRS eine Sepsis, 18 % eine schwere Sepsis und 4 % einen septischen Schock. Mit dieser Krankheitsprogression war auch ein Anstieg der Letalität verbunden. Sie betrug für Patienten mit SIRS 7%, mit Sepsis 16%, mit schwerer Sepsis 20% und mit septischem Schock 46 % (52). Hieraus kann die enorme Wichtigkeit einer frühzeitigen Diagnosestellung und eines raschen Therapiebeginns abgeleitet werden, um eine Krankheitsprogression und die damit verbundene Letalitätszunahme zu verhindern.

1.3 Diagnose der Sepsis

Derzeit stützt sich die Diagnose einer Sepsis auf die klinischen Symptome, bildgebende Verfahren und die manchmal langwierigen mikrobiologischen Verfahren. Im klinischen Alltag ist es daher oft schwierig, die Diagnose einer Infektion als Ursache einer systemischen Inflammationsreaktion sicher und vor allem schnell zu stellen. Wünschenswert wären zusätzliche neue Parameter, die bei Patienten mit systemischer Inflammation die Frage nach einer möglicherweise infektiösen Ursache der Entzündungsreaktion beantworten und, sollte dies der Fall sein, eine Bewertung der Effektivität der Therapie schon sehr früh zulassen. Idealerweise sind dies Parameter mit einer hohen Sensitivität und Spezifität. Ihre analytischen Bedingungen sollten optimiert, standardisiert und reproduzierbar sein. Die Parameter müssen an gesunden Personen, aber auch prospektiv an einer genügend großen Anzahl von Patienten mit klar definierten Krankheitsbedingungen über die Zeit und mit eindeutigen Endpunkten getestet werden. So können Normalwerte erfasst sowie signifikante Grenzwerte an definierten Zeitpunkten bestimmt werden. Letztendlich sollten die Parameter auch kosteneffektiv sein, d.h. einen kostensenkenden Einfluss auf die Behandlung und das Behandlungsergebnis haben, um ihren klinischen Einsatz zu rechtfertigen (18). Neben anderen Markern werden zur Zeit vor allem IL-6 und PCT, aber auch das Humane Leukozyten Antigen (HLA-DR) auf ihren Wert zur Sepsisdiagnostik und zum Therapiemonitoring hin untersucht.

1.3.1 Interleukin 6

IL-6 ist ein aus 187 Aminosäuren bestehendes, 22 - 27 kDa großes Protein, welches unter anderem von Monozyten, Makrophagen, Endothelzellen und Fibroblasten produziert wird. Es wurde erstmalig im Jahre 1980 von Weissenbach und Kollegen beschrieben und damals zunächst Interferon-beta2 genannt. Seit dem Jahr 1989 wird es als IL-6 bezeichnet. Ein unspezifischer Anstieg konnte bei verschiedenen, akuten inflammatorischen Reaktionen auf u.a. Verletzung, Infektion oder Hirntod gezeigt werden (56). IL-6 scheint jedoch nicht spezifisch eine bakterielle Infektion anzuzeigen, sondern kann auch im Rahmen von Operationen, Autoimmunerkrankungen, einer Transplantatabstoßung oder viralen Infektionen erhöht sein (37). Bezogen auf die Sepsis zeigten Calandra und Kollegen an 70 Patienten mit septischem Schock, dass ein Maximum der IL-6-Konzentration mit dem Eintritt des septischen Schocks auftrat. Zu einer Prediktion der Mortalität schien sich IL-6 jedoch nicht zu eignen (9). Demgegenüber konnte jedoch bei

Patienten mit Pneumonie ein frühzeitiger Zusammenhang der IL-6 Konzentrationen sowohl mit der Schwere der Infektion als auch mit dem Ansprechen auf eine empirische Antibiotikatherapie gezeigt werden. Igonin und Kollegen untersuchten hierzu 30 Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie. Sie konnten bei Patienten mit einer schweren Infektion höhere IL-6-Werte bestimmen als bei solchen mit einer leichteren Infektion. Des Weiteren stellten sie einen IL-6-Abfall an Tag eins nach Therapiebeginn bei den Patienten mit später erfolgreichem Therapieverlauf auch dann fest, wenn sich zu diesem Zeitpunkt klinisch noch keine Befundbesserung zeigte (27).

1.3.2 Procalcitonin

PCT ist ein aus 116 Aminosäuren bestehendes 13-kDa großes Propeptid. Es ist eine Vorstufe von Calcitonin, welches durch proteolytische Prozessierung in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet wird und bei gesunden Personen üblicherweise nicht nachweisbar ist. Im Falle einer bakteriellen Infektion bzw. Sepsis treten jedoch im Zuge der Akute-Phase-Reaktion hohe PCT-Serumkonzentrationen auf (46). PCT wird hierbei in nahezu allen Körpergeweben gebildet. Im Tiermodell scheint insbesondere die Leber eine Schlüsselrolle in der Procalcitonin-Produktion einzunehmen (38). In einer prospektiven Multicenter-Studie mit 245 Patienten zeigte sich, dass sowohl schwere generalisierte bakterielle Infektionen mit systemischen Manifestationen als auch lokale bakterielle Infektionen mit erhöhten PCT-Konzentrationen verbunden sind. Im Gegensatz dazu erhöhen virale Infektionen, Mykosen oder nicht-infektiöse Entzündungsreaktionen die PCT-Konzentration nicht oder nur marginal (2). Für PCT konnte nachgewiesen werden, dass es das Ansprechen auf eine Antibiotikatherapie anzeigen kann. Assicot und Kollegen untersuchten hierzu 79 Kinder mit vermuteter Infektion. Im Falle einer schweren bakteriellen Infektion zeigte sich PCT initial erhöht. Nach antibiotischer Therapie kam es jedoch rasch zu einer Abnahme der PCT-Konzentration (4). Auch war eine Assoziation mit einer erfolgreichen chirurgischen Herdsanierung erkennbar. Rau und Kollegen untersuchten hierzu 61 Patienten mit akuter Pankreatitis, von denen 21 Patienten im Verlauf eine infizierte nekrotisierende Pankreatitis entwickelten. Zum Einen zeigten sich die PCT-Werte im Gegensatz zur sterilen nekrotisierenden Pankreatitis und zur ödematösen Pankreatitis erhöht, zum Anderen zeigte sich nach erfolgreicher chirurgischer Sanierung, jedoch nicht im Fall einer persistierenden Sepsis, eine PCT-Abnahme (53). Zudem konnten Christ-Crain und Kollegen an 243 Patienten mit Infektionen der unteren Atemwege zeigen, dass mit einer an Procalcitonin ausgerichteten Antibiotika-

behandlung deutliche Einspareffekte bzgl. des Antibiotikaverbrauchs bei gleichem Outcome bestehen (10). Ähnliches stellten Nobre und Kollegen an 79 Patienten mit schwerer Sepsis bzw. septischem Schock hinsichtlich einer möglichen Reduktion der Dauer des Antibiotikaeinsatzes anhand regelmäßiger PCT-Bestimmungen fest. Es zeigte sich, dass hierdurch die Gabe von Antibiotika um vier Tage und die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation bei gleicher Letalität um zwei Tage verkürzt werden konnte (45).

1.3.3 Humanes Leukozyten Antigen (HLA-DR)

Auch wenn IL-6 und PCT bis zu einem gewissen Grad Einzug in die klinische Routine gehalten haben, ist damit der ideale Sepsisparameter noch nicht gefunden. So vermögen weder IL-6 noch PCT schon nach 24 Stunden eine ausreichende Aussage über die Wirksamkeit der aktuellen Behandlung zu machen. Eine Verbesserung der Aussagekraft über den Krankheits- und Therapieverlauf innerhalb der ersten 24 Stunden könnte jedoch durch die Kombination mit weiteren Entzündungsparametern, wie z.B. der HLA-DR-Expression auf Monozyten, gelingen.

Monozyten gehören neben Makrophagen, Langerhans-Zellen der Haut und dendritischen Zellen zur Gruppe der antigenpräsentierenden Zellen und stellen einen Teil des angeborenen, unspezifischen Immunsystems dar. Sie befinden sich im Knochenmark, im Blut oder bei Infektionen bzw. Entzündungen im Exsudat und verfügen, wie jede kernhaltige Zelle, über Haupthistokompatibilitätsantigene. Das HLA-System besteht aus Glykoproteinmolekülen hoher Variabilität, die sich auf der Zelloberfläche befinden. Es wird von einem, auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 lokalisierten, Genkomplex kodiert. Es werden drei Genregionen unterschieden: HLA-Region I, II und III.

Die HLA-I-Region kodiert für die klassischen HLA-I-Antigene HLA-A, -B und -C. Diese Antigene befinden sich auf allen kernhaltigen Zellen. Daneben gibt es auch noch die nichtklassischen HLA-I-Antigene HLA-E, -H und -G. Die HLA-II-Region kodiert u.a. für die klassischen HLA-II-Antigene HLA-DR, -DQ, und -DP, die sich jeweils noch in Subgruppen einteilen lassen. Diese Antigene befinden sich nur auf der Oberfläche von Zellen des Immunsystems, so auch auf Monozyten. Die HLA-III-Region schließlich kodiert nicht für HLA-Antigene, sondern z.B. für Zytokine, wie den Tumornekrosefaktor (TNF) (16).

HLA-Antigene spielen eine wichtige Rolle bei der Aktivierung des spezifischen Immunsystems durch Monozyten. Zum Einen werden in den Monozyten intrazelluläre Antigene zu Peptiden abgebaut und über HLA-I-Moleküle zytotoxischen T-Lympho-

zyten präsentiert, was für die Immunantwort bei Tumor- oder Viruserkrankungen von Bedeutung ist. Zum Anderen werden extrazelluläre Antigene, wie im Fall einer bakteriellen Infektion, mittels Endozytose von Monozyten aufgenommen und intrazellulär abgebaut, um daraufhin über HLA-II-Moleküle T-Helferzellen präsentiert zu werden (5). Die auf diesem Weg aktivierten T-Helferzellen können dann über die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie Interferon-gamma (IFN-gamma) und über direkte Zell-Zell-Interaktion antigenspezifische B-Lymphozyten und zytotoxische T-Lymphozyten aktivieren, die in der Folge den jeweiligen Erreger bekämpfen (25).

Insbesondere bei einer Sepsis kommt es jedoch häufig zu einer Deaktivierung von Monozyten, was sich auch in einer verminderten Expression von HLA-DR zeigt. Damit verbunden ist eine Abnahme der immunologischen Funktion. So ist bei deaktivierten Monozyten z.B. die Fähigkeit reduziert, TNF-alpha und Interferon-gamma zu produzieren oder eine antigenspezifische T-Zell-Proliferation zu induzieren (60).

Die reduzierte Expression von HLA-DR auf Monozyten wurde bei Sepsispatienten schon in früheren Studien beobachtet. Monneret und Kollegen konnten in einer prospektiven Observationsstudie an 93 Patienten mit septischem Schock zeigen, dass drei bis vier Tage nach Erkrankungsbeginn die HLA-DR-Expression bei Überlebenden signifikant höher war als bei Verstorbenen (43). Darüberhinaus zeigten Lekkou und Kollegen an 30 Patienten mit schwerer Sepsis, die durch eine ambulant erworbene Infektion verursacht worden war, dass es bei Überlebenden zu einer stetigen Zunahme der HLA-DR-Expression kam (33). Es scheint somit neben der absoluten Ausprägung der HLA-DR-Expression auch die Dynamik des HLA-DR-Verlaufs eine Aussagekraft zu haben. Ein Anstieg der Expression scheint mit einer höheren Überlebenswahrscheinlichkeit zu korrelieren und könnte möglicherweise eine adäquate Therapie anzeigen.

Eine Vergleichbarkeit der Studien über die Aussagekraft der HLA-DR-Expression war bislang allerdings nur eingeschränkt möglich, da unterschiedliche Methoden zur Bestimmung angewandt wurden. In einem Teil der Studien wurde der Prozentsatz an HLA-DR-positiven Monozyten bestimmt, in anderen Studien wiederum wurde die mittlere Fluoreszenz-Intensität des HLA-DR-Signals von Monozyten gemessen. Auch waren die Messmethoden selbst unterschiedlich (22). Mittlerweile gibt es mit der BD Quantibrite HLA-DR/Monozyten Reagenz der Firma Becton Dickinson eine standardisierte Methode zur Bestimmung der mittleren HLA-DR-Expression pro Monozyt mit einer guten analytischen Reliabilität (14).

1.4 Therapie

Mehrere Autoren konnten zwischenzeitlich zeigen, dass der rasche Beginn einer adäquaten Therapie von überragender Bedeutung für das Therapieergebnis bei schwerer Sepsis und septischem Schock ist. Während der Therapiebeginn einfach zu bestimmen ist und rasch erfolgen kann, ist die Beurteilung einer Therapie hinsichtlich ihrer Eignung für den individuellen Krankheitsfall meist erst mit einiger Verzögerung möglich. So benötigen mikrobiologische Kulturen in der Regel etwa 48 Stunden, um valide Aussagen zum Vorliegen einer Infektion und der Sensibilität des Krankheitserregers auf das gewählte Antibiotikum zu erlauben.

Bei der Therapie ist die kausale, medikamentöse Behandlung mit Antibiotika von anderen Maßnahmen zu unterscheiden. Zu diesen gehört beispielsweise die chirurgische Fokussanierung, deren Bedeutung u.a. von Marshall und Kollegen belegt wurde. Sie beschrieben die Wichtigkeit chirurgischer bzw. interventioneller Therapiemaßnahmen bei Sepsis unterschiedlicher Lokalisation. Dazu gehören die Drainage infizierter Körperhöhlen, das Débridement von infiziertem Weichteilgewebe, die Entfernung infizierter Fremdkörper und die anatomische Wiederherstellung von Organen, z.B. nach einer Perforation, um eine fortdauernde mikrobielle Kontamination zu unterbinden und eine normale Funktion wieder herzustellen (36).

Die entscheidende Rolle spielt aber die unmittelbare und adäquate Antibiotikatherapie. Kumar und Kollegen beobachteten an 2154 Patienten mit septischem Schock, die keine initiale Antibiotikatherapie erhielten, eine Abnahme der Überlebensrate von 7,6 % pro Stunde bis zur ersten Antibiotikagabe (30). Dies belegt einerseits die Bedeutung einer schnellen Diagnose für den frühzeitigen Therapiebeginn. Auf der anderen Seite muss die Antibiotikatherapie auch adäquat sein, d.h. der Erreger muss sensibel auf das gewählte Präparat sein. Hier zeigten Garnacho-Montero und Kollegen bei 406 nicht-chirurgischen Patienten, von denen 105 Patienten an Sepsis, 116 Patienten an schwerer Sepsis und 185 Patienten an septischem Schock litten, dass eine inadäquate initiale Antibiotikatherapie als unabhängiger Faktor mit einer erhöhten Krankenhausletalität verbunden war (19). Es muss somit auch im Verlauf eine zeitnahe Überwachung des Therapieverlaufs möglich sein, um gegebenenfalls eine inadäquate Antibiotikatherapie frühzeitig zu wechseln.

1.5 Fragestellungen

1.5.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf

Die vorliegende Studie untersucht zunächst die zeitliche Kinetik der Parameter IL-6, PCT und HLA-DR-Expression auf Monozyten in Bezug auf den klinischen Zustand der Patienten im Verlauf der Erkrankung. Zur Quantifizierung des Zustandes der Patienten wurde täglich der SOFA-Score, ein Morbiditätsscore, bestimmt.

1.5.2 Risikostratifizierung

In einem zweiten Untersuchungsansatz wird die Eignung der drei Parameter zur Risikostratifizierung hinsichtlich des Sterberisikos der Patienten untersucht.

1.6 Zusammenfassung

Die schwere Sepsis ist eine häufige Erkrankung mit einer hohen Letalität. Bedeutsam für den Behandlungserfolg ist neben einem unmittelbaren Therapiebeginn v.a. eine kurzfristige Überprüfung des Therapieerfolgs als Ausdruck der Therapiewirksamkeit, um ggf. eine Modifikation des Therapieregimes vorzunehmen. Die bisher verfügbaren Biomarker sind hierzu hinsichtlich ihrer Kinetik jedoch nur bedingt geeignet. Gemeinsam mit IL-6 und PCT wird die zeitliche Kinetik der HLA-DR-Expression in Bezug auf den klinischen Zustand der Patienten betrachtet. Weiterhin wird die Eignung der drei Parameter für eine frühzeitige Risikostratifizierung untersucht.

2. Patienten und Methoden

2.1 Patienten - Ein- und Ausschlusskriterien

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg begutachtet und unter der Nummer **54/04** genehmigt. In die Studie eingeschlossen wurden Patienten, die das 18. Lebensjahr vollendet hatten und die Kriterien einer Sepsis, schweren Sepsis oder eines septischen Schocks aufwiesen. Ausschlusskriterien waren das Vorhandensein einer angeborenen Gerinnungsstörung oder eine bestehende Schwangerschaft (Tab. 1).

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Patienten, ≥ 18 Jahre alt • Patienten mit manifester Sepsis, schwerer Sepsis oder septischem Schock entsprechend den modifizierten Kriterien der ACCP/SCCM Konsensuskonferenz (Tab. 2) • Einwilligung des Patienten oder seines/seiner vom Amtsgericht bestellten Betreuers/Betreuerin in die Teilnahme an der Studie 	<ul style="list-style-type: none"> • Vorhandensein einer angeborenen Gerinnungsstörung • Bestehende Schwangerschaft

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien

Die Diagnose SIRS wurde anhand modifizierter Kriterien der ACCP/SCCM Konsensuskonferenz gestellt (40). Die Modifikation bestand darin, dass wenigstens drei statt nur zwei der vier allgemeinen Inflammationszeichen Tachykardie, Tachypnoe, Leukozytose/-zytopenie und Hyper-/Hypothermie vorliegen müssen, um die Diagnose SIRS stellen zu können. Diese Modifikation erfolgte im Einklang mit großen klinischen Un-

tersuchungen der letzten Jahre zur Sepsis. Die Diagnose Sepsis erforderte ein SIRS und eine nachgewiesene Infektion. Eine schwere Sepsis lag vor, falls zusätzlich zu einer Sepsis Organschäden auftraten. Der septische Schock schließlich war durch eine schwere Sepsis in Verbindung mit Hypotonie trotz ausreichender Volumensubstitution definiert. Details der Kriterien und Definitionen sind in Tabelle 2 dargestellt. Die eingeschlossenen Patienten verblieben bis zur Normalisierung des Laborparameters PCT (< 1 ng/ml), bis zum Tod oder bis zur Verlegung bzw. Entlassung von der Intensivstation in der Studie.

SIRS	<p>Anders als in der Definition der ACCP/SCCM Consensus Conference wird für die Diagnose eines SIRS das Vorliegen von wenigstens drei der vier folgenden Kriterien gefordert:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Herzfrequenz > 90/min • Atemfrequenz > 20/min oder $\text{pCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$ oder beatmet • Leukozyten > $12.000/\text{mm}^3$ oder $< 4.000/\text{mm}^3$ oder > 10% unreife Formen • Körpertemperatur > 38°C oder $< 36^\circ\text{C}$
Sepsis	<p>Diagnose eines SIRS <i>und</i> nachgewiesene Infektion oder vermutete Infektion auf der Grundlage einer der folgenden Befunde:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Leukozyten in normalerweise steriler Körperflüssigkeit • Perforiertes Hohlorgan • Infiltrat in der Röntgenaufnahme des Thorax und purulentes Sputum • Klinisches Syndrom mit hoher Wahrscheinlichkeit einer infektiösen Ursache (Purpura fulminans etc.)
Schwere Sepsis	<p>Diagnose einer Sepsis und Nachweis wenigstens eines sepsisinduzierten Organversagens auf der Grundlage folgender Befunde:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Renal: Diurese $< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ für eine Stunde, trotz adäquater Volumentherapie (bei vorbestehender eingeschränkter Nierenfunktion (Kreatinin $> 2 \times$ oberer Normwert vor der Sepsis) muss ein weiteres Organversagen vorliegen) • Hämatologisch: Thrombozytenzahl $< 80.000/\text{mm}^3$ oder Abfall um $> 50 \%$ innerhalb der letzten drei Tage • Respiratorisch: $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 250$ (nicht durch Volumenüberladung induziert, bei pneumogener Sepsis und isoliertem Lungenversagen muss $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ sein) • Hepatisch: Erhöhung des Bilirubinwertes auf das Dreifache der oberen Norm • Metabolisch: Unerklärbare metabolische Azidose: $\text{pH} \leq 7,3$ oder Basendefizit $> 5,0 \text{ mEq/l}$ und Plasmalaktat $> 1,5$-facher Normwert
Septischer Schock	<p>Diagnose einer schweren Sepsis und eines kardiovaskulären Versagens auf der Grundlage folgender Befunde:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Systolischer Blutdruck $\leq 90 \text{ mmHg}$ oder mittlerer Blutdruck $\leq 70 \text{ mmHg}$ für mindestens eine Stunde, trotz adäquater Volumentherapie / ausreichendem Volumenstatus und / oder Vasopressorthherapie

Tabelle 2: Modifizierte Kriterien der ACCP/SCCM Konsensuskonferenz

2.2 Methoden

2.2.1 Tägliche Untersuchungen

Die eingeschlossenen Patienten wurden täglich klinisch untersucht. Folgende Parameter wurden erfasst: Temperatur, Herzfrequenz, Blutdruck, Atemfrequenz, GCS, Gewicht, Ernährung, Atemweg, Beatmung, PEEP, PIP, Vt, I:E, FiO₂, PaO₂, PaCO₂, pH, HCO₃, Base Excess, SaO₂, SvO₂, Einsatz von NO, Einsatz von ECMO, ZVD, Herzzeitvolumen, EVLW, pulmonalarterieller Blutdruck (falls möglich), PCWP (falls möglich), Hämofiltration, Medikamente (Katecholamine, Hypnotika, Analgetika, Sedativa, Diuretika, Hydrocortison, Antikoagulation, EKs, FFPs, TKs, AT-III-Einheiten, sonstige Gerinnungsprodukte, Antihypertensiva, Antidepressiva, Antiobstruktiva, Antibiotika), Erregernachweis sowie pneumonische Infiltrate. Es wurden der APACHE II - Score (29), der SAPS II - Score (31) und der SOFA - Score (59) täglich berechnet.

2.2.2 Blutabnahme

Für die Bestimmung von HLA-DR wurde den Patienten täglich 2,6 ml EDTA-Blut abgenommen. Die Bestimmung von PCT und IL-6 erfolgte im Rahmen der täglichen Laborroutine. Die Proben wurden unmittelbar unter Einhaltung der Kühlkette ins Labor gebracht und laborchemisch ausgewertet (24).

2.2.3 Geräte und Reagenzien

2.2.3.1 Interleukin 6

IL-6 wurde an dem Gerät Immulite™ 2500 der Firma DPC Biermann GmbH aus Bad Nauheim in Deutschland bestimmt. Der Test ist ein sequentieller Festphasen-Chemilumineszenz-Immunometrischer Assay. Die Reagenzien (Bestellnummer: L5K6P2) bestehen einerseits aus einer Polystyrol-Kugel, die mit IL-6-Antikörpern beschichtet ist und andererseits aus einem Enzymkonjugat, welches IL-6-Antikörper enthält, die mit dem Enzym alkalische Phosphatase konjugiert sind. Alle für die Bestimmung benötigten Materialien sind CE-zertifiziert.

Die erforderliche Probenmenge beträgt jeweils 100 µl Serum oder Heparin-Plasma. Vor der Messung werden die Proben ultrazentrifugiert (4000 U/Min für 10 Minuten). Die Teströhrchen mit den antikörperbeschichteten Kunststoffkugeln werden mit der Probe und der Verdünnungsreagenz befüllt. Es folgt eine Inkubation über 30 Minuten bei 37 °C. Hierbei bindet IL-6 an Anti-IL-6, es bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Nach Waschvorgängen wird das testspezifische Enzymkonjugat hinzupipettiert und erneut für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Dabei binden die enthaltenen Antikörper an das an der Kugel gebundene IL-6 (Sandwich-Assay). Nach Waschvorgängen werden 200 µl eines Chemilumineszenz-Substrats zugegeben. Mittels der nun an IL-6 gebundenen alkalischen Phosphatase wird ein instabiles Zwischenprodukt erzeugt, welches beim Zerfall ein Photon aussendet. Das erzeugte Licht wird nach 5 Minuten durch einen Photomultiplier (PMT) gemessen. Es ist direkt proportional zur Menge an gebundener alkalischer Phosphatase und damit direkt proportional zur in der Probe enthaltenen Menge an IL-6.

2.2.3.2 Procalcitonin

PCT wurde an dem Gerät LIAISON® BRAHMS PCT® der Firma DiaSorin Deutschland GmbH aus Dietzenbach in Deutschland bestimmt. Der Test ist ein zweiseitiger immunluminometrischer Assay (Sandwichtest). Die Reagenzien (Bestellnummer: REF 318.101) enthalten zum Einen eine Magnetpartikelsuspension, bestehend aus mit anti-Katacalcin-Antikörpern beschichteten Magnetpartikeln, zum Anderen eine Tracerlösung, die aus isoluminol-markierten anti-Calcitonin-Antikörper zusammengesetzt ist. Beide Antikörper binden an unterschiedlichen Stellen an PCT.

75 µl Serum, Heparin-, Citrat- oder EDTA-Plasma (zentrifugiert für 10 Minuten bei 4000 U/Min) und 100 µl Tracerlösung werden in das Teströhrchen pipettiert. Darauf folgen zehn Minuten Inkubation, in der Procalcitonin an die anti-Calcitonin-Antikörper der Tracerlösung bindet, es bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Nach Zugabe von 20 µl Magnetpartikelsuspension folgen weitere zehn Minuten Inkubation. Die anti-Katacalcin-Antikörper der Magnetpartikel binden nun ebenfalls an Procalcitonin. Nach Fixierung der Magnetpartikel werden durch einen Spülzyklus überschüssige Tracer entfernt. Bei der Messung gibt das Isoluminol der an PCT gebundenen anti-Calcitonin-Antikörper durch chemische Oxidation Photonen ab, die durch einen Lumineszenzpho-

tometer gemessen werden. Die Menge an gemessenen Photonen ist direkt proportional zu der in der Probe enthaltenen Menge an PCT.

2.2.3.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten

Die HLA-DR-Expression wurde an einem FACScan™ Analyser der Firma Becton Dickinson GmbH aus Heidelberg in Deutschland gemessen. Als Reagenz wurde „QuantibRITE Anti-HLA-DR PE / Anti-Monocyte PerCP-Cy5,5“ (Bestellnummer: 340827) eingesetzt, welches neben Antikörpern gegen HLA-DR, CD-14 und CD-64 das Fluorochrom Phycoerythrin enthält.

Der FACScan™ Analyser ist ein Durchflusszytometer. Das Messprinzip ist, dass Einzelzellen in einer Trägerlösung durch einen im 90°-Winkel einfallenden Laserstrahl geführt werden und diesen abhängig von Zellgröße und -komplexität in spezieller Art und Weise ablenken und verändern, was mit Hilfe von Detektoren registriert wird. Es werden drei Eigenschaften gemessen: Vorwärtstreulicht (FSC), Seitwärtstreulicht (SSC) und die spezifische Fluoreszenz. FSC wird entlang der Achse des einfallenden Lichts gemessen. Es steht für die Lichtbeugung und ist proportional zur Zelloberfläche bzw. Zellgröße. SSC wird in einem 90°-Winkel zum einfallenden Licht gemessen. Es steht für die Lichtbrechung und Reflexion und ist proportional zur Zellkomplexität bzw. -granularität. Die Fluoreszenz wird ebenfalls in einem 90°-Winkel zum einfallenden Licht gemessen. Die entsprechende Wellenlänge ist abhängig vom verwendeten Fluorochrom. Ein Fluorochrom absorbiert die einfallende Energie des Laserlichts und emittiert ein Photon einer größeren Wellenlänge (=geringeren Energie) unter Abgabe von Wärme. Die Wellenlängendifferenz wird Stoke's-Shift genannt. Das emittierte Fluoreszenzlicht ist proportional zur Zahl der gebundenen Fluorochrommoleküle.

Die Optik der Anregung besteht aus:

- einem Argon-Laser (488 nm)
- Prismen, um den Laserstrahl zu formen und zu fokussieren.

Die Detektionsoptik besteht aus:

- einer Sammellinse, die das emittierte Licht im 90°-Winkel sammelt
- einem System von optischen Teiler-Spiegeln und Filtern, das die spezifischen Wellenlängen zu den entsprechenden optischen Detektoren lenkt.

Es gibt Detektoren für grünes, gelb-oranges und rotes Licht. Das verwendete Fluorochrom Phycoerythrin leuchtet gelb-orange.

Abbildung 1 veranschaulicht, inwiefern eine Zelle, die den Laserstrahl passiert, spezifische Ablenkungen verursacht. Die Zellgröße verursacht Änderungen des Vorwärtsstreu-lichts (FSC), die Zellkomplexität beeinflusst das Seitwärtsstreulicht (SSC).



Abbildung 1: Messprinzip des Durchflusszytometers - FSC und SSC

(aus: „Einführung in die Durchflusszytometrie-Customer Education“, BD Biosciences Heidelberg, 2000)

Abbildung 2 verdeutlicht, inwiefern die Fluoreszenzintensität proportional zu der pro Zelle gebundenen fluoreszierenden Partikel ist.

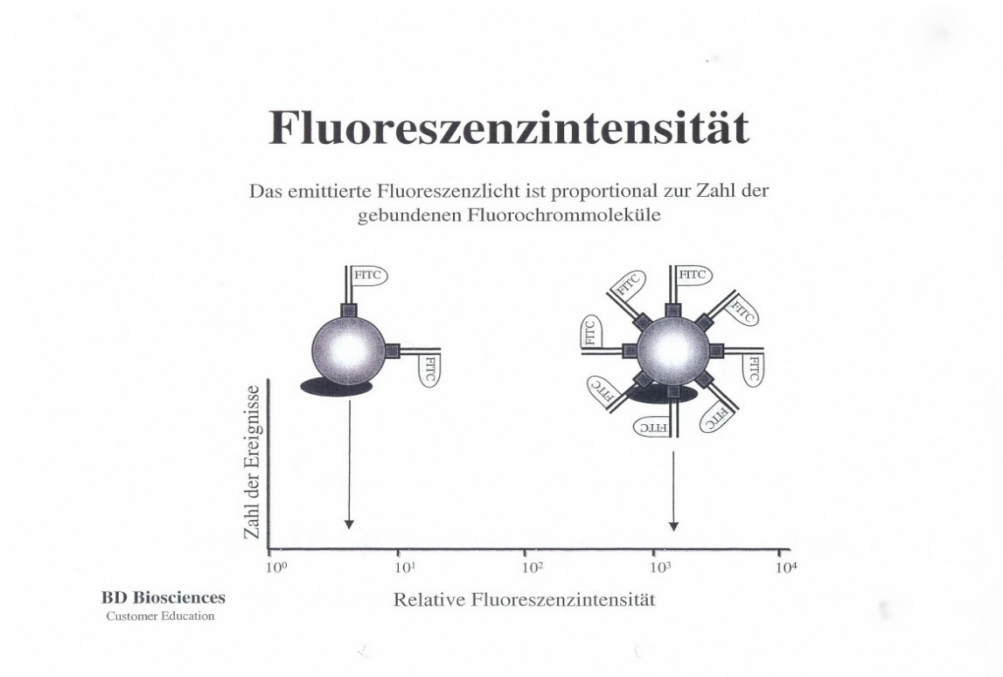


Abbildung 2: Messprinzip des Durchflusszytometers - Fluoreszenzintensität

(aus: „Einführung in die Durchflusszytometrie-Customer Education“, BD Biosciences Heidelberg, 2000)

In Abbildung 3 ist die Analyse einer Vollblutprobe aufgetragen. Aufgrund der unterschiedlichen Beschaffenheit von Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten können sie in der Flowzytologie als jeweils eigenständige Populationen abgegrenzt werden. Mittels des „Threshold“ können Frequenzmuster unterhalb eines zu definierenden Wertes ausgeblendet werden (auf der Abbildung werden alle Zellen mit einem FSC < ca. 42 ausgeblendet).

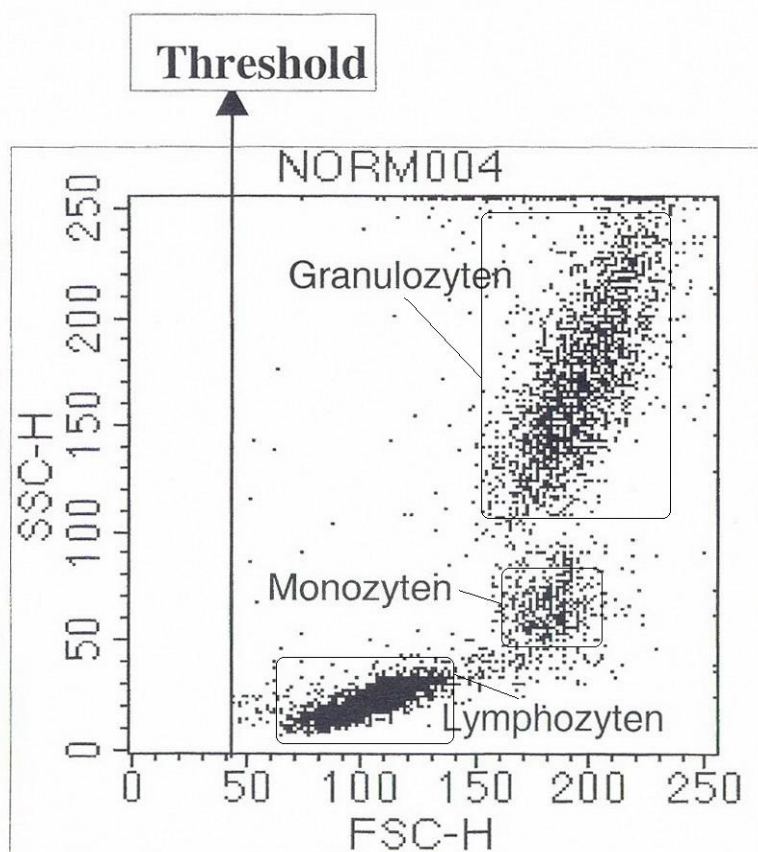


Abbildung 3: Messprinzip des Durchflusszytometers - Unterschiedliche Leukozyten-Populationen

(aus: „Einführung in die Durchflusszytometrie-Customer Education“, BD Biosciences Heidelberg, 2000)

In den Abbildungen 4 - 6 sind exemplarisch drei Messergebnisse der vorliegenden Studie präsentiert. Vor der Berechnung wird der Bereich der Monozytenpopulation manuell markiert, was in dem kleinen Fenster unten links ersichtlich ist. „Events“ zeigt die Anzahl an gemessenen Monozyten an und „Y-Median“ steht für die durchschnittliche HLA-DR-Expression pro Monozyt. Die Messung in Abbildung 4 ergab eine durchschnittliche HLA-DR-Expression von 5676,62 / Monozyt, in Abbildung 5 von 10603,64 / Monozyt und in Abbildung 6 von 16803,28 / Monozyt.

QuantiCALC

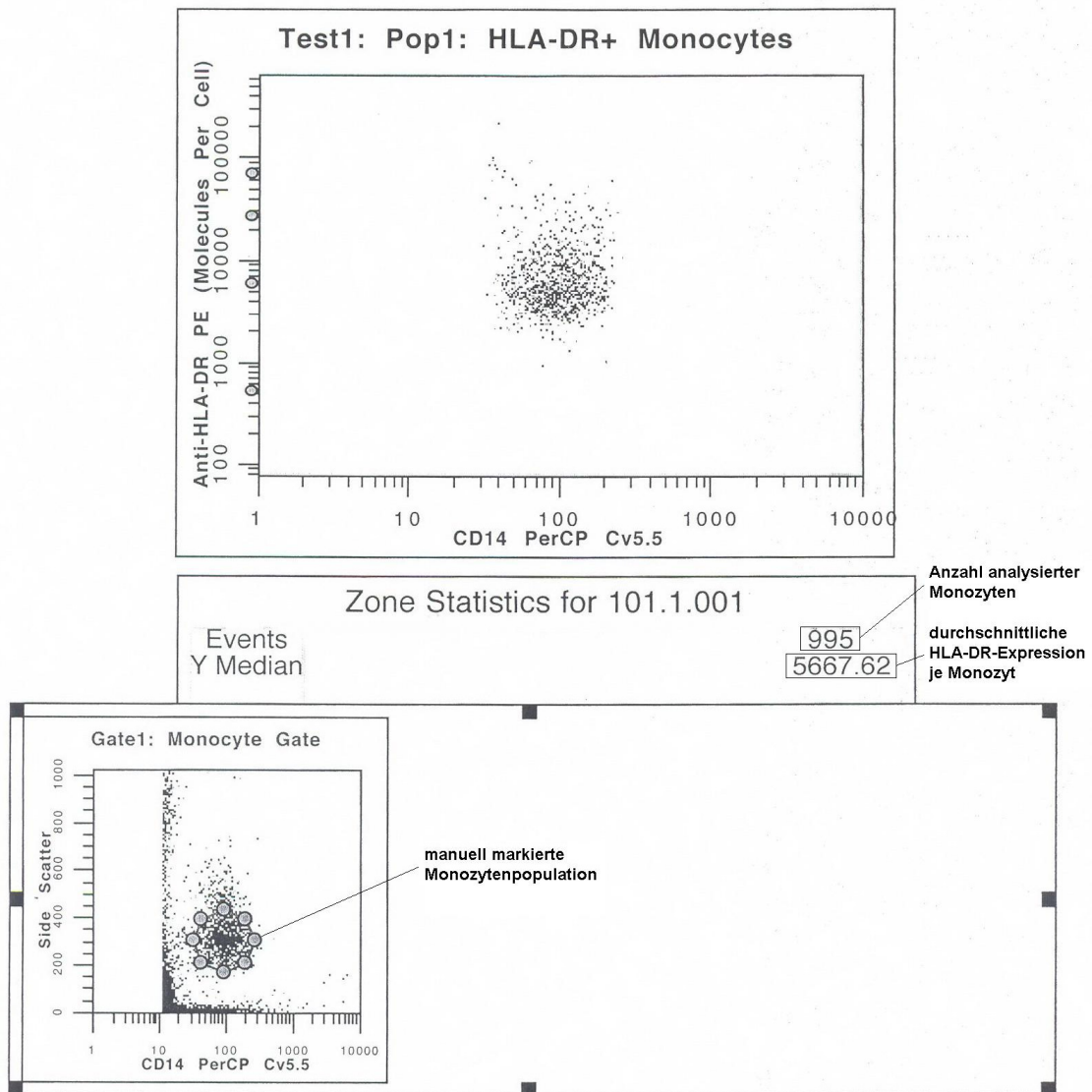


Abbildung 4: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 5667,62 / Monozyt

QuantiCALC

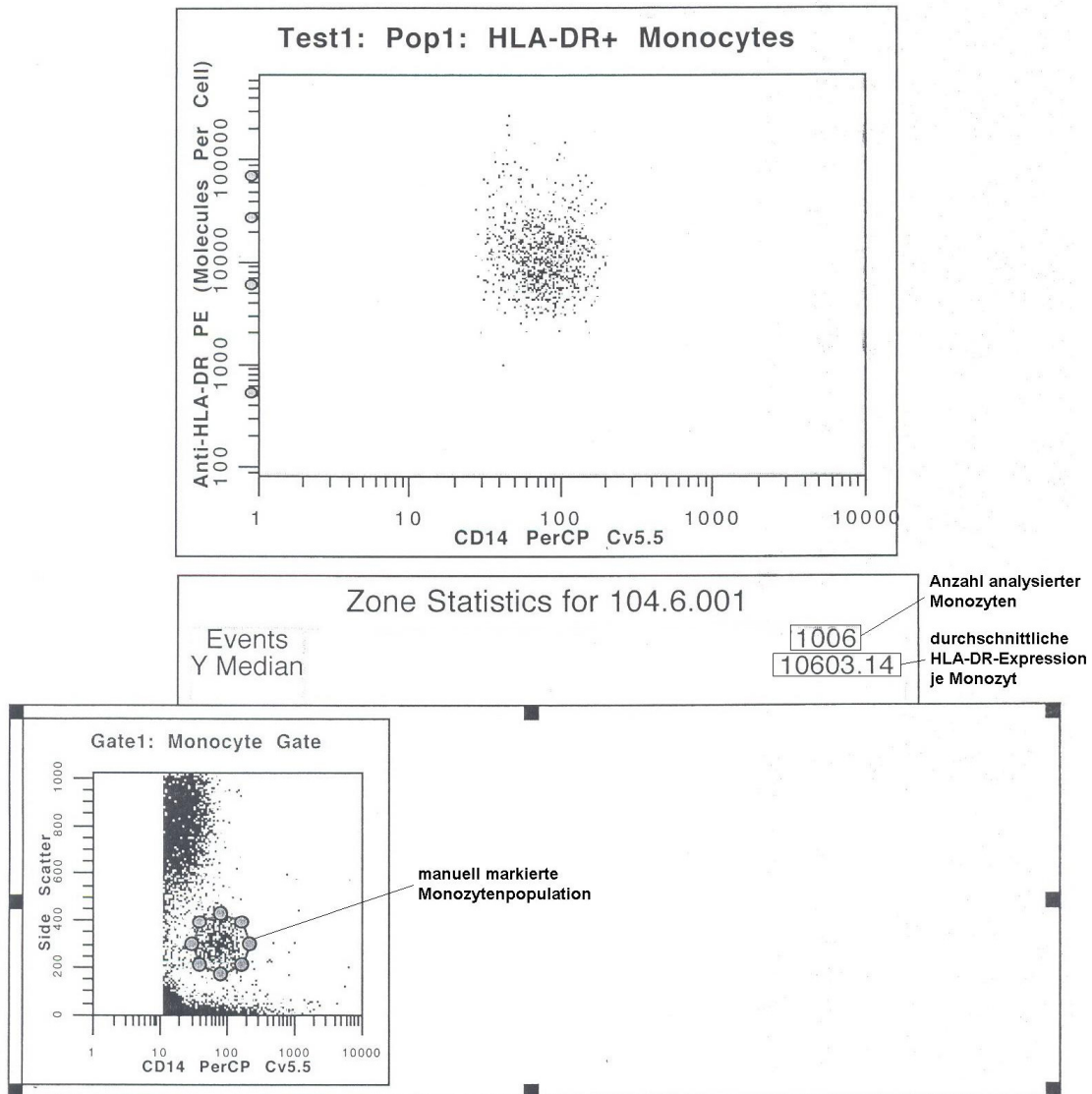


Abbildung 5: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 10603,14 / Monozyt

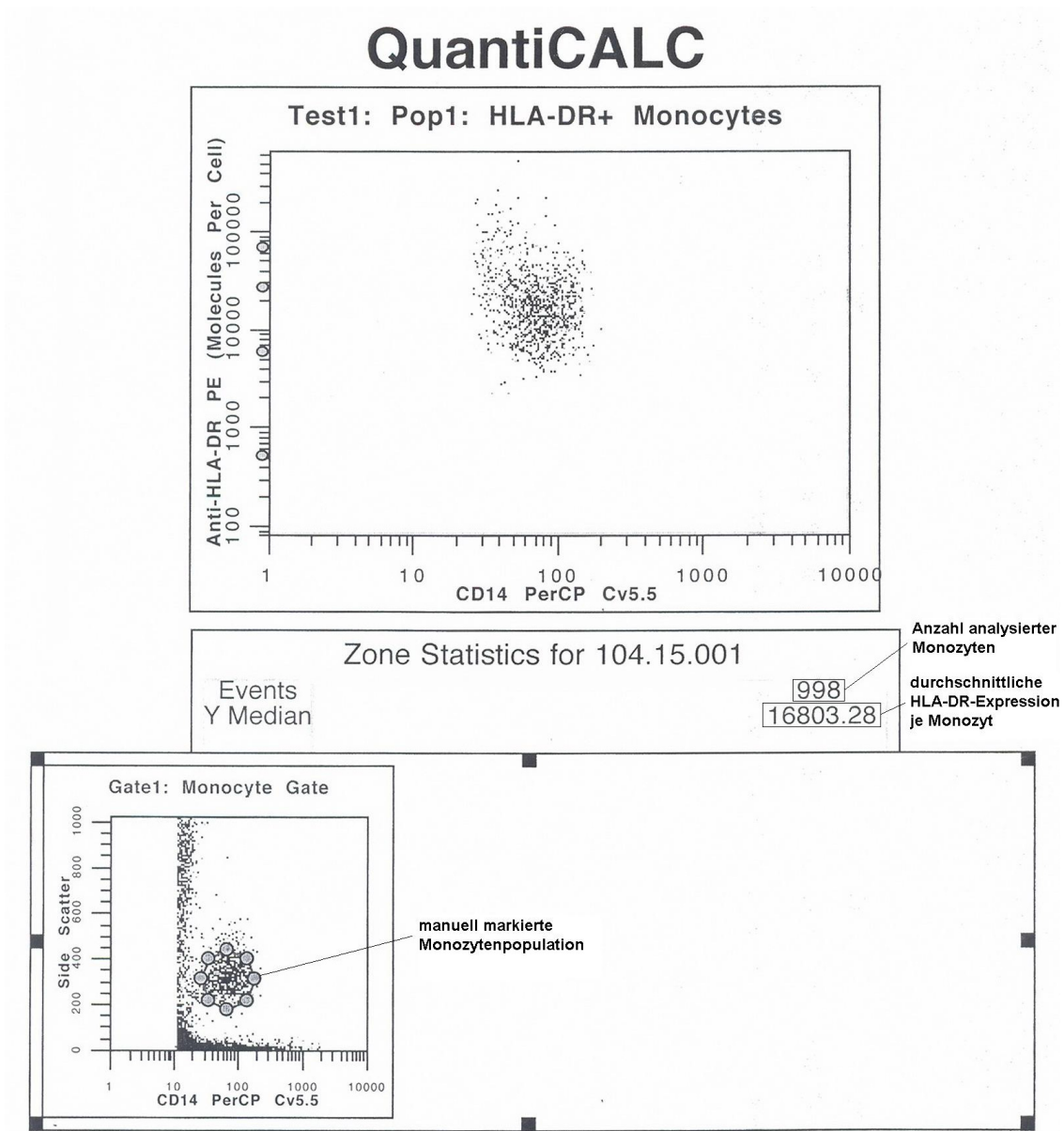


Abbildung 6: HLA-DR-Expression von durchschnittlich 16803,28 / Monozyt

Vor der eigentlichen Messung erfolgt eine Eichung des Gerätes mittels QuantiBRITE™ PE. Ein QuantiBRITE™ PE-Röhrchen enthält ein lyophilisiertes Kügelchen, welches mit vier verschiedenen Konzentration von Phycoerythrin (PE), einem Fluorochrom, konjugiert ist. Bei der Messung der Patientenprobe wird „QuantiBRITE Anti-HLA-DR PE/Anti-Monocyte PerCP-Cy5.5“ verwendet. „Anti-HLA-DR PE“ ist ein mit dem Fluorochrom „Phycoerythrin“ (PE) konjugierter Antikörper, der mit dem nichtpolymorphen HLA-DR-Epitop eines humanen Klasse II-Haupthistokompatibilitätskomplex- (MHC II-) Antigens reagiert. „Anti-Monocyte PerCP-Cy5.5“ enthält Antikörper, die sich sowohl mit CD14- als auch mit CD64-Glykoproteinen verbinden, welche sich als Fc-Rezeptoren in der Zellmembran von Monozyten befinden. Somit können CD14- und CD64-positive Monozyten gekennzeichnet werden, an diesen kann dann über die Messung des Fluorochroms Phycoerythrin die HLA-DR-Expression bestimmt werden.

Zur Vorbereitung der Messung werden 50 µl gut durchmisches, in Eiswasser gelagertes EDTA-Vollblut zusammen mit 20 µl „QuantiBRITE Anti-HLA-DR PE/Anti-Monocyte PerCP-Cy5.5“ für 25-35 Minuten unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit werden 0,45 ml FACS™ Lysing Lösung hinzugegeben, die Probe gemischt und unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur für weitere 10 Minuten inkubiert. Anschließend erfolgt die Messung im Durchflusszytometer. Die Registrierung erfolgt mittels der CellQuest™ Software. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe der QuantiCALC™ Software.

2.2.4 Statistik

2.2.4.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf

2.2.4.1.1 Zielkriterium

Als Zielkriterium wurde die klinische Besserung des Patienten definiert. Mittels der täglichen Bestimmung des SOFA-Scores, einem Morbiditäts-Score, konnten Veränderungen des klinischen Zustandes der Patienten quantifiziert werden. Der SOFA-Score beschreibt das Ausmaß von Organdysfunktionen und nimmt mit zunehmender Morbidität höhere Werte an. Eine Reduktion des SOFA-Scores um mindestens drei Punkte innerhalb der ersten fünf Tage wurde als klinische Besserung definiert. Die Veränderung des SOFA-Scores wurde durch die Differenzbildung aus dem SOFA-Score von Tag eins und dem höchsten SOFA-Score der Tage drei bis fünf berechnet. Als ausreichend und anhaltend wurde eine klinische Besserung jedoch nur dann gewertet, wenn der SOFA-Score an den Tagen drei bis fünf jeweils um mindestens drei Punkte niedriger ausfiel als der Ausgangswert.

2.2.4.1.2 Einflussgrößen

IL-6, PCT und die HLA-DR-Expression wurden als Einflussgrößen in Bezug auf das Zielkriterium in logistischen Regressionsmodellen untersucht. Es wurde berechnet, inwiefern ihre Veränderung in den ersten Tagen mit einer Reduktion des SOFA-Scores in den darauf folgenden Tagen korreliert. Zum Einen wurde hierzu die reine Richtung einer wie auch immer gearteten Parameterveränderung und zum Anderen die absolute Differenz zwischen Tag eins und Tag zwei, Tag eins und Tag drei sowie zwischen Tag zwei und Tag drei berücksichtigt. Die jeweilige Anzahl der in die Berechnung mit einbezogenen Patienten schwankt, da an vereinzelt Tagen Parametermessungen nicht durchgeführt werden konnten und folglich diese Patienten in der Berechnung nicht berücksichtigt werden konnten.

2.2.4.1.3 Berechnungen

Die Berechnungen wurden mittels logistischer Regressionsmodelle durchgeführt. Zunächst wurden univariate Analysen der einzelnen Parameter vorgenommen. Hier zeigte sich, dass sämtliche univariat berechneten Ergebnisse die gewählte Signifikanzschwelle

von $p = 0,05$ überschritten. Aus diesem Grund konnte keine multivariate Analyse zur Bildung eines aus mehreren Parametern bestehenden Scores durchgeführt werden.

Als Ergebnis der univariaten Analysen ergab sich die Formel $\ln(p/1-p) = K_o + (P_a * E_f)$, die später (nach Umformung) erlaubt, die Wahrscheinlichkeit für eine klinische Besserung im Verlauf zu berechnen. In diese allgemeine Formel werden verschiedene Werte eingesetzt, die für jeden Parameter und für jede einzelne Berechnung unterschiedlich sind. Konkret berechnet wurden in der vorliegenden Untersuchung jeweils „ K_o “ und „ E_f “, variabel einzusetzen ist „ P_a “, und nach Umstellung der Formel kann „ p “ ausgerechnet werden. Ergebnisse zu den einzelnen Parametern sind in den Tabellen 5 - 7 im Ergebnisteil zu finden.

„ K_o “ stellt eine parameterspezifische Konstante dar. „ E_f “ steht für den Effektschätzer, der als Maß für den Einfluss des Parameters auf das Zielkriterium gilt. Je höher „ E_f “ berechnet wird, desto höher ist der Einfluss des jeweiligen Parameters auf das Zielkriterium. „ P_a “ stellt die Einflussgröße dar und steht als Variable für die jeweilige Laborparameterberechnung. Es wird hier der Wert 1 oder 0 bei Berücksichtigung einer wie auch immer gearteten Parameterveränderung (Zunahme oder Abnahme) eingesetzt. Der Wert 1 wurde eingesetzt, falls eine Besserung des klinischen Zustandes nach der jeweils zu erwartenden Richtung der Parameterveränderung eintrat und 0 wurde dementsprechend vergeben, falls sie nicht eintrat. Eine klinische Besserung des Patienten wurde mit einer Zunahme der HLA-DR-Expression und mit einer Abnahme der PCT- und IL-6-Konzentration assoziiert. Bei Berücksichtigung der Höhe der Laborparameterveränderung zwischen den untersuchten Tagen wurde für „ P_a “ die berechnete Höhe der Parameterveränderung eingesetzt. Zur Berechnung derselben wurde für HLA-DR und PCT die Differenz der absoluten Parameterhöhe verwendet. Für IL-6 wurde zunächst der natürliche Logarithmus der gemessenen Werte gebildet, da der Parameter in vivo eine exponentielle Entwicklung zeigt und erst durch die Logarithmusbildung mit der eher linearen Entwicklung der beiden anderen Parametern vergleichbar wird. „ p “ steht schließlich für die Wahrscheinlichkeit, dass das Zielkriterium (die klinische Besserung) eintritt. Die Formel kann nun nach „ p “ umgeformt werden:

$$p = (\text{EXP}[K_o + (P_a * E_f)]) / (1 - \text{EXP}[K_o + (P_a * E_f)])$$
 Je höher „ p “ nach Einsetzen der individuellen Werte eines neuen Patienten berechnet wird, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine klinische Besserung eintritt.

Falls die Laborparameter bzgl. ihres Einflusses auf das Zielkriterium verglichen werden sollen, muss berücksichtigt werden, dass sich der Effektschätzer als Maß für diesen

Einfluss immer auf die Veränderung des jeweiligen Parameters um eine Einheit bezieht. Um verschiedene Effektschätzer vergleichen zu können, muss sich allerdings am klinischen Einsatz der Parameter orientiert und der Effektschätzer angepasst werden. Wenn z.B. die Veränderung von Parameter X um eine Einheit eine ähnliche klinische Relevanz hat, wie eine Veränderung von Parameter Y um 1000 Einheiten, so muss der Effektschätzer von Parameter Y mit 1000 multipliziert werden, soll er mit dem Effektschätzer von X verglichen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die berechnete Wahrscheinlichkeit einer klinischen Besserung des Patienten im Verlauf umso höher ist, je größer die jeweils berechnete Konstante sowie der individuell angepasste Effektschätzer und der eingesetzte Parameterwert ist.

2.2.4.2 Risikostratifizierung

Neben der Korrelation der Parameter mit dem klinischen Verlauf der Patienten wurde des Weiteren der Frage nachgegangen, ob eine frühzeitige Risikostratifizierung mittels der untersuchten Parameter möglich ist. Hierzu wurden Cox-Regressionsmodelle entwickelt, in denen univariat und bivariat eine Assoziation mit dem Sterberisiko untersucht werden konnte. Da die zunehmend im klinischen Alltag Anwendung findenden Prognosescores nach 24 Stunden eine Aussage zur Prognose zulassen, wurde die Aussagekraft der gemessenen Laborparameter und des APACHE II-Scores bzgl. des Mortalitätsrisikos ebenfalls für diesen Zeitpunkt berechnet. Der behandelnde Kliniker hat zu diesem Zeitpunkt den APACHE II-Score, der 24 Stunden nach Aufnahme rückwirkend berechnet werden kann, sowie Laborparameter des Aufnahmetages und des darauffolgenden Tages zur Verfügung. Die Aussagefähigkeit des APACHE II-Scores in Bezug auf das Sterberisiko konnte schon von Knaus und Kollegen in einer großen Studie nachgewiesen werden (29).

Es wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst untersucht, ob univariat der APACHE II-Score, die Höhe der drei untersuchten Laborparameter an Tag zwei und die Veränderung der Laborwerte von Tag eins auf Tag zwei eine Aussage über das Sterberisiko zulassen. Hier zeigte sich eine starke Assoziation des APACHE II-Scores mit dem Sterberisiko. Aus diesem Grund wurde des Weiteren in bivariaten Analysen der Zusammenhang der Höhe der Laborparameter an Tag zwei und der Veränderung der

Laborparameterwerte von Tag eins auf Tag zwei mit dem APACHE II-Score untersucht. Als Ergebnis dieser Berechnungen ergab sich wiederum eine Formel:

$HR = \text{EXP}(Ef \cdot Pa)$. „HR“ steht für Hazard-Ratio und gibt an, um welchen Faktor das Sterberisiko bei einem Patienten erhöht bzw. vermindert ist, abhängig von seinem individuellen Laborparameterwert, APACHE II-Score oder der Differenz der Laborparameterwerte zwischen Tag eins und Tag zwei, im Vergleich zu einem Patienten, der diese Konstellation nicht aufweist. Ein $HR > 1$ entspricht einem erhöhten und ein $HR < 1$ einem verminderten Sterberisiko. „Ef“ steht erneut für den Effektschätzer als Maß für den Einfluss des jeweiligen Parameters auf das Sterberisiko. „Pa“ schließlich entspricht der jeweiligen Parameterhöhe bzw. der Differenz zwischen Tag eins und zwei. Analog zu den Berechnungen zum klinischen Verlauf kann nun für einen neuen Patienten durch Einsetzen eines Laborparameterwerts bzw. APACHE II-Scores und des jeweiligen Effektschätzers das prognostizierte Sterberisiko berechnet werden. Hier gilt ebenso, dass wenn die Parameter bzgl. ihres Einflusses auf das Sterberisiko verglichen werden sollen, eine Orientierung am klinischen Einsatz der Parameter und ggf. eine Anpassung der Effektschätzer notwendig ist (s.o.).

Patienten, die schon am Tag nach der Aufnahme verstarben, wurden in den Berechnungen nicht berücksichtigt. Des Weiteren schwankt wiederum die Anzahl der berücksichtigten Patienten, da an vereinzelten Tagen Parametermessungen nicht durchgeführt werden konnten. Mit Events wurde die Anzahl der während des Klinikaufenthalts verstorbenen Patienten bezeichnet.

2.2.4.3 Durchführung der Berechnungen

Die Berechnungen bzgl. des Zusammenhanges zwischen spezifischen Parameterveränderungen und der Entwicklung des klinischen Zustandes des Patienten wurden mittels logistischer Regressionsmodelle durchgeführt. Zur Prüfung der Eignung der Parameter zur frühzeitigen Risikostratifizierung wurden Cox-Regressionsmodelle aufgestellt. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen (*). Für die statistische Analyse wurde das SAS - Software - Paket verwendet (SAS Institute inc. Cary, N.C., USA, Vers. 9.1). Die Durchführung der Berechnungen erfolgte mit Unterstützung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Hans - Helge Müller aus dem Institut für medizinische Biometrie und Epidemiologie der Philipps - Universität Marburg.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Von Januar 2005 bis November 2006 wurden insgesamt 111 Intensivpatienten in die Studie aufgenommen. Sie waren im Durchschnitt 65 Jahre alt und zu 72 % männlich. Der mittlere SOFA-Score zum Einschlussdatum betrug 9 Punkte, der mittlere APACHE II-Score 20 Punkte und der mittlere SAPS II-Score 43 Punkte (Tab. 3).

Patientenübersicht	
Patienteneinschluss (von...bis)	14.01.2005 - 16.11.2006
Patientenanzahl	111
männlich, Anzahl (prozentualer Anteil)	80 (72 %)
weiblich, Anzahl (prozentualer Anteil)	31 (28 %)
Alter in Jahren, median (min-max)	65 (22 - 89)
SOFA, median (min-max)	9 (2 - 20)
APACHE II, median (min-max)	20 (6 - 42)
SAPS II, median (min-max)	43 (7 - 97)

Tabelle 3: Patientenübersicht

3.2 Güte der Testverfahren

Die Laborparameter IL-6, PCT und HLA-DR-Expression auf Monozyten wurden gemäß der NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) - Leitlinie bzgl. Linearität und Reproduzierbarkeit evaluiert. Die Verdünnungslinearität wurde mittels einer seriellen linearen Dilution von 7 Verdünnungsschritten bei IL-6 und 10 Verdünnungsschritten bei PCT durchgeführt. Zur Verdünnung der IL-6-Proben wurde Multidiluent 2 (Bestellnummer: L2M2Z, L2M2Z4), eine konzentrierte nichthumane

Protein-/Puffermatrix mit Konservierungsstoffen, eingesetzt. Zur Verdünnung der PCT-Proben wurde physiologische NaCl-Lösung verwendet. Einzelheiten sind in Tab. 4 aufgeführt. In Abb. 7 und 8 sind die Verdünnungslinearitäten von IL-6 und PCT graphisch aufgetragen.

	IL-6	PCT	HLA-DR
VK - Low	2,29 % (11,3 pg/ml)	12 % (0,43 ng/ml)	1,4 % (5150 Ak/Monozyt)
VK - High	1,88 % (308 pg/ml)	2,4 % (10,4 ng/ml)	6,2 % (28480 Ak/Monozyt)
Linearität	Slope: 0,9716; Intercept: 3,8265; R=0,9999 (Abb. 7)	Slope: 0,9831; Intercept: -0,0802; R=0,9988 (Abb. 8)	
Untere Nachweisgrenze	2 pg/ml	0,1 ng/ml	
Referenzbereich (für PCT und IL-6 laut Herstellerfirma)	< 3,4 pg/ml	< 0,5 ng/ml	< 5000 Ak/Monozyt: Immunparalyse 5000 - 15000 Ak/Monozyt: moderate bis schwere Immundepression > 15000 Ak/Monozyt: physiologische Immunkompetenz (14)

Tabelle 4: Analytische Leistung

VK-Low: Variationskoeffizient (Maß für die Varianz) für niedrige Konzentrationen; VK-High: Variationskoeffizient für hohe Konzentrationen; Slope = Steigung; Intercept = Schnittpunkt mit der y-Achse; R = Korrelationskoeffizient

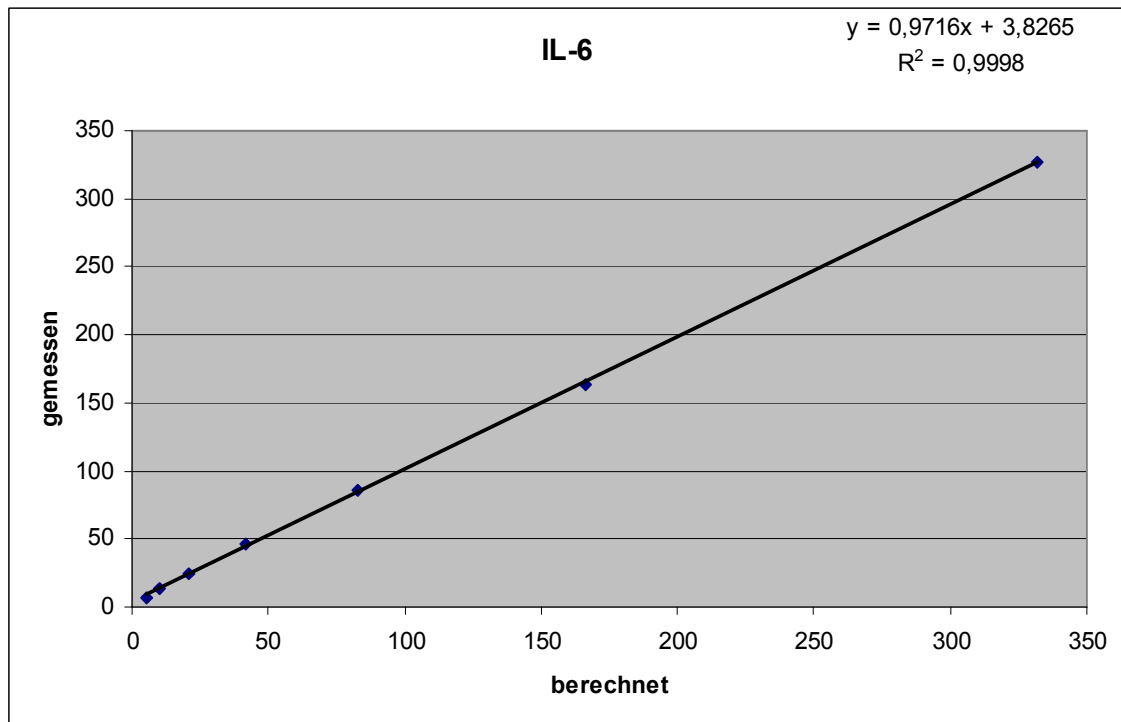


Abbildung 7: Verdünnungslinearität von IL-6

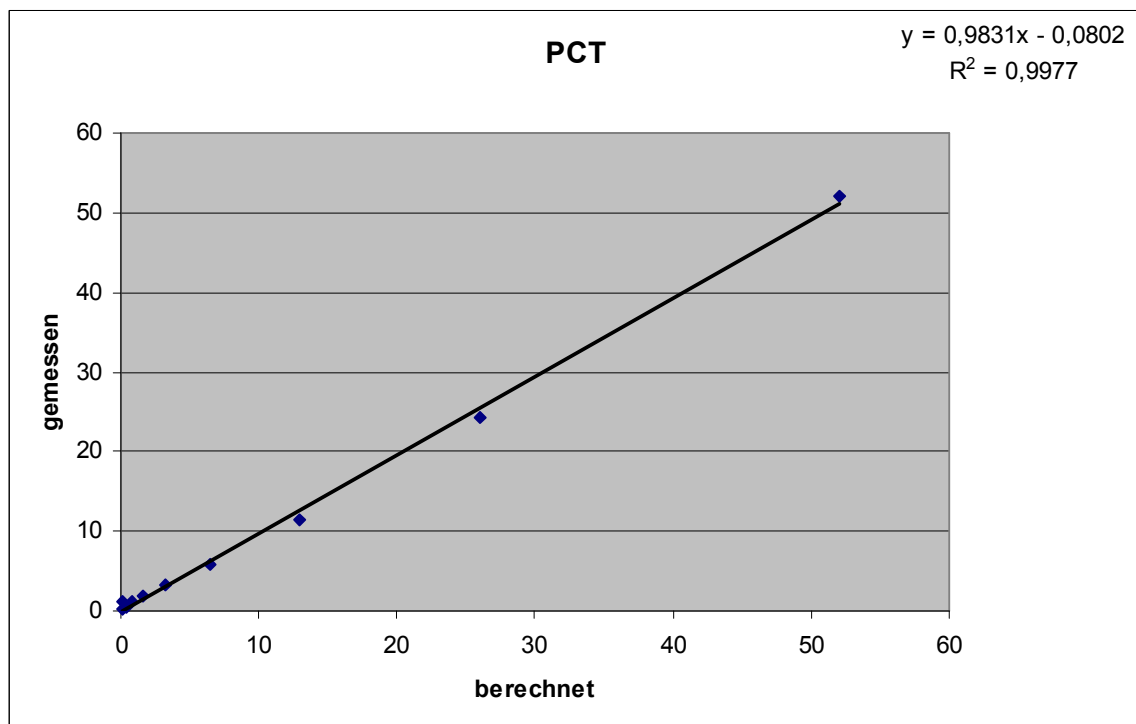


Abbildung 8: Verdünnungslinearität von PCT

3.3 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf

Die Laborparameter IL-6, PCT und HLA-DR-Expression wurden daraufhin untersucht, ob sie mit dem Krankheitsverlauf der Patienten korrelieren. Ziel war es, einen Zusammenhang zwischen einer frühzeitigen Veränderung dieser Laborparameter und einer klinischen Besserung der Patienten im Verlauf zu finden.

3.3.1 Interleukin 6

Für den Verlauf der IL-6-Konzentrationen wurden keine statistisch signifikanten Ergebnisse gewonnen. Für eine wie auch immer geartete Abnahme des Parameters von Tag eins auf Tag zwei konnte ein p-Wert von 0,1400 errechnet werden. Bei Berücksichtigung der Differenz der logarithmierten IL-6 Konzentrationen von Tag eins auf Tag zwei sowie der reinen Abnahme von Tag eins auf Tag drei ergaben sich p-Werte von 0,2846 bzw. 0,3276.

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Abnahme der IL-6-Konzentration und einer darauffolgenden Abnahme des SOFA-Scores. Einzelheiten sind in Tab. 5 wiedergegeben.

3.3.2 Procalcitonin

Auch für Procalcitonin ergab sich kein statistisch signifikantes Ergebnis. Bei Berücksichtigung einer wie auch immer gearteten Abnahme des Parameters von Tag eins auf Tag drei bzw. von Tag eins auf Tag zwei ergaben sich p-Werte von 0,1379 bzw. 0,1470. Falls die absolute Höhe der Veränderung berücksichtigt wurde, konnte von Tag eins auf Tag zwei ein p-Wert von 0,3496 berechnet werden.

Das heißt, dass eine Abnahme von Procalcitonin in keinem statistisch signifikanten Zusammenhang mit einer später folgenden Abnahme des SOFA-Scores steht. Einzelheiten sind in Tab. 6 wiedergegeben.

3.3.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten

Für die Veränderungen der HLA-DR-Expression vom ersten auf den zweiten Tag sowie vom ersten auf den dritten Tag zeigte sich ebenfalls keine statistische Signifikanz. Lediglich ein statistischer Trend konnte berechnet werden. Der niedrigste p-Wert konnte

bei Berücksichtigung eines wie auch immer gearteten Anstiegs von Tag eins auf Tag drei mit 0,0923 bei einem Effektschätzer von 0,8544 berechnet werden. Bei Berücksichtigung der absoluten Höhe der Veränderung zwischen Tag eins und Tag zwei bzw. Tag eins und Tag drei ergaben sich p-Werte von 0,1223 bzw. 0,2208.

Dies bedeutet, dass es keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen einem Anstieg der HLA-DR-Expression auf Monozyten und einer später folgenden Abnahme des SOFA-Scores gibt. Es existiert jedoch ein statistischer Trend zwischen einem Anstieg der HLA-DR-Expression von Tag eins auf Tag drei und einem folgenden Abfall des SOFA-Scores. Einzelheiten sind in Tab. 7 wiedergegeben.

3.4 Risikostratifizierung

3.4.1 Laborparameter von Tag 2 und APACHE II-Score

Sowohl der APACHE II-Score als auch die IL-6-Konzentration an Tag zwei wiesen einen p-Wert auf, der die Signifikanzschwelle von $p = 0,05$ unterschritt (0,0098 bzw. 0,0148). Der Effektschätzer wurde für den APACHE II-Score mit 0,05519 und für die IL-6-Konzentration mit 0,25808 berechnet. Für die HLA-DR-Expression und für PCT ergaben sich für Tag zwei p-Werte von 0,3781 bzw. 0,2248, die die Signifikanzschwelle überschritten. In der bivariaten Analyse zeigten sich für den APACHE II-Score und die IL-6-Konzentration p-Werte von 0,0587 und 0,0814. Da hier keine drastischen Veränderungen zu der univariaten Analyse sichtbar wurden, scheinen beide Parameter unabhängig voneinander mit dem Mortalitätsrisiko verknüpft zu sein. Die HLA-DR-Expression sowie die PCT-Konzentrationen wurden linear, die Höhe der IL-6-Konzentrationen wurden logarithmiert berücksichtigt.

Es zeigte sich somit, dass sowohl der APACHE II-Score als auch die IL-6-Konzentration an Tag zwei statistisch signifikant mit dem Mortalitätsrisiko verknüpft sind (Tab. 8-11).

3.4.2 Veränderung der Laborparameter von Tag 1 auf Tag 2

Bzgl. der Veränderung der Laborparameter von Tag eins auf Tag zwei ergaben sich keine p-Werte $< 0,05$. Der geringste p-Wert wurde für PCT mit $p=0,1172$ berechnet. Die p-Werte für HLA-DR und für IL-6 betrugen 0,8154 bzw. 0,8748. In der bivariaten Analyse mit dem APACHE II-Score stieg der p-Wert von PCT auf 0,519 an. Dies ist ein Hinweis darauf, dass diese statistisch nicht signifikante Verknüpfung von PCT mit dem Mortalitätsrisiko zudem nicht unabhängig vom APACHE II-Score existiert. Die Höhe der Differenzen wurden für die HLA-DR-Expression sowie für die PCT-Konzentrationen linear, für die IL-6-Konzentrationen logarithmiert berücksichtigt.

Folglich bedeutet dies, dass die Veränderung der Laborwerte zwischen Tag eins und zwei keine statistisch signifikante Aussage zum Mortalitätsrisiko zulassen (Tab. 12-15).

IL-6-Konzentration Zielkriterium: Klinische Besserung des Patienten									
	Konstante	Effekt-schätzer	Standard-fehler	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis	p-Wert	Odds-Ratio	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis
1)	-1,909500	0,883700	0,598800	-0,289948	2,057348	0,140000	2,419837	0,748302	7,825190
2)	-1,404200	0,183600	0,171600	-0,152736	0,519936	0,284600	1,201535	0,858356	1,681920
3)	-1,791800	0,660400	0,674500	-0,661620	1,982420	0,327600	1,935566	0,516015	7,260292
4)	-1,273600	0,022100	0,145500	-0,263080	0,307280	0,879400	1,022346	0,768680	1,359722
5)	-0,980800	-0,307100	0,482200	-1,252212	0,638012	0,524300	0,735577	0,285872	1,892714
6)	-1,125800	-0,150100	0,251900	-0,643824	0,343624	0,551200	0,860622	0,525280	1,410048

- 1) Abnahme von Tag 1 auf Tag 2 (nein=0, ja=1); 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 23 Patienten erfüllt
 2) Einflussgröße: $\ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 1}) - \ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 2})$; 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 23 Patienten erfüllt
 3) Einflussgröße: Abnahme von Tag 1 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 23 Patienten erfüllt
 4) Einflussgröße: $\ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 1}) - \ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 3})$; 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 23 Patienten erfüllt
 5) Einflussgröße: Abnahme von Tag 2 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 107 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 25 Patienten erfüllt
 6) Einflussgröße: $\ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 2}) - \ln(\text{IL-6-Konzentration an Tag 3})$; 107 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 25 Patienten erfüllt

Tabelle 5: Korrelation der IL-6-Konzentration mit dem Krankheitsverlauf

PCT-Konzentration Zielkriterium: Klinische Besserung des Patienten									
	Konstante	Effekt-schätzer	Standard-fehler	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis	p-Wert	Odds-Ratio	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis
1)	-1,550600	0,717700	0,494900	-0,252304	1,687704	0,147000	2,049713	0,777008	5,407052
2)	-1,102700	0,010800	0,011500	-0,011740	0,033340	0,349600	1,010859	0,988329	1,033902
3)	-1,686400	0,818900	0,552000	-0,263020	1,900820	0,137900	2,268004	0,768727	6,691379
4)	-1,098400	0,001080	0,004380	-0,007505	0,009665	0,806000	1,001081	0,992523	1,009712
5)	-1,098400	-0,032900	0,537000	-1,085420	1,019620	0,951100	0,967635	0,337760	2,772141
6)	-1,110500	-0,001550	0,007000	-0,015270	0,012170	0,824200	0,998451	0,984846	1,012244

- 1) Einflussgröße: Abnahme von Tag 1 auf Tag 2 (nein=0, ja=1); 106 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 27 Patienten erfüllt
 2) Einflussgröße: $(\text{PCT-Konzentration an Tag 1} - \text{PCT-Konzentration an Tag 2})$; 106 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 27 Patienten erfüllt
 3) Einflussgröße: Abnahme von Tag 1 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 26 Patienten erfüllt
 4) Einflussgröße: $(\text{PCT-Konzentration an Tag 1} - \text{PCT-Konzentration an Tag 3})$; 103 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 26 Patienten erfüllt
 5) Einflussgröße: Abnahme von Tag 2 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 106 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 26 Patienten erfüllt
 6) Einflussgröße: $(\text{PCT-Konzentration an Tag 2} - \text{PCT-Konzentration an Tag 3})$; 106 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 26 Patienten erfüllt

Tabelle 6: Korrelation der PCT-Konzentration mit dem Krankheitsverlauf

HLA-DR-Expression auf Monozyten Zielkriterium: Klinische Besserung des Patienten									
	Konstante	Effekt-schätzer	Standard-fehler	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis	p-Wert	Odds-Ratio	95%-Konfidenz-intervall von	95%-Konfidenz-intervall bis
1)	-1,142100	-0,027900	0,483200	-0,974972	0,919172	0,953900	0,972486	0,377203	2,507214
2)	-1,098600	0,000109	0,000071	-0,000030	0,000248	0,122300	1,000109	0,999970	1,000248
3)	-1,547600	0,854400	0,507600	-0,140496	1,849296	0,092300	2,349964	0,868927	6,355344
4)	-1,139400	0,000086	0,000070	-0,000051	0,000223	0,220800	1,000086	0,999949	1,000223
5)	-1,252800	0,124300	0,498900	-0,853544	1,102144	0,803200	1,132356	0,425903	3,010614
6)	-1,191800	-0,000020	0,000097	-0,000210	0,000170	0,861900	0,999980	0,999790	1,000170

- 1) Einflussgröße: Anstieg von Tag 1 auf Tag 2 (nein=0, ja=1); 100 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 24 Patienten erfüllt
 2) Einflussgröße: $(\text{HLA-DR-Expression an Tag 2} - \text{HLA-DR-Expression an Tag 1})$; 100 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 24 Patienten erfüllt
 3) Einflussgröße: Anstieg von Tag 1 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 90 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 21 Patienten erfüllt
 4) Einflussgröße: $(\text{HLA-DR-Expression an Tag 3} - \text{HLA-DR-Expression an Tag 1})$; 90 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 21 Patienten erfüllt
 5) Einflussgröße: Anstieg von Tag 2 auf Tag 3 (nein=0, ja=1); 90 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 21 Patienten erfüllt
 6) Einflussgröße: $(\text{HLA-DR-Expression an Tag 3} - \text{HLA-DR-Expression an Tag 2})$; 90 Patienten insgesamt; Zielkriterium bei 21 Patienten erfüllt

Tabelle 7: Korrelation der HLA-DR-Expression mit dem Krankheitsverlauf

Sterberisiko: Univariate Analyse der Laborparameter von Tag 2 und des APACHE II-Scores								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis	p-Wert	Hazard-Ratio	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis
APACHE II*	0,055190	0,021370	0,013305	0,097075	0,009800	1,056741	1,013394	1,101943
HLA-DR	-0,000047	0,0000533	-0,000151	0,0000575	0,378100	0,999953	0,999849	1,0000575
PCT	0,002770	0,002280	-0,001699	0,007239	0,224800	1,002774	0,998303	1,007265
IL-6* (logarithmiert)	0,258080	0,105850	0,050614	0,465546	0,014800	1,294442	1,051917	1,592884
APACHE II: 108 Pat., 37 Events; HLA-DR: 99 Pat., 33 Events; PCT: 108 Pat., 37 Events; IL-6: 107 Pat., 37 Events								

Tabelle 8: Univariate Analyse: Parameter von Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Bivariate Analyse der logarithmierten IL-6-Konzentration von Tag 2 und des APACHE II-Scores								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis	p-Wert	Hazard-Ratio	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis
IL-6	0,191150	0,109670	-0,023803	0,406103	0,081400	1,210641	0,976478	1,500957
APACHE II	0,042400	0,022430	-0,001563	0,086363	0,058700	1,043312	0,998438	1,090202
107 Pat., 37 Events								

Tabelle 9: Bivariate Analyse: IL-6 (logarithmiert) von Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Bivariate Analyse der PCT-Konzentration von Tag 2 und des APACHE II-Scores								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis	p-Wert	Hazard-Ratio	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis
PCT	-0,0000616	0,002670	-0,005295	0,005172	0,981600	0,999938	0,994719	1,005185
APACHE II*	0,055430	0,023880	0,008625	0,102235	0,020300	1,056995	1,008663	1,107644
108 Pat., 37 Events								

Tabelle 10: Bivariate Analyse: PCT von Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Bivariate Analyse der HLA-DR-Expression von Tag 2 und des APACHE II-Scores								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis	p-Wert	Hazard-Ratio	95 % Konfidenzintervall von	95 % Konfidenzintervall bis
HLA-DR	-0,0000318	0,0000493	-0,000128	0,0000648	0,518200	0,999968	0,999872	1,0000648
APACHE II*	0,058820	0,022260	0,015190	0,102450	0,008200	1,060584	1,015306	1,107881
99 Pat., 33 Events								

Tabelle 11: Bivariate Analyse: HLA-DR-Expression von Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Univariate Analyse der Differenz der Parameterwerte zwischen Tag 1 und Tag 2 HLA-DR: Tag 2 – Tag 1; PCT: Tag 1 – Tag 2; IL-6: ln(Tag 1) – ln(Tag 2)								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfi- denz- intervall Von	95 % Konfi- denz- intervall bis	p-Wert	Hazard-Ratio	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis
HLA-DR	0,00000361	0,0000155	-0,0000268	0,0000340	0,815400	1,00000361	0,999973	1,0000340
PCT	-0,006950	0,004440	-0,015652	0,001752	0,117200	0,993074	0,984469	1,001754
IL-6	0,022500	0,142820	-0,257427	0,302427	0,874800	1,022755	0,773038	1,353139
HLA-DR: 99 Pat., 33 Events; PCT: 105 Pat., 37 Events; IL-6: 102 Pat., 36 Events								

Tabelle 12: Univariate Analyse: Parameterwertdifferenz zwischen Tag 1 und 2

Sterberisiko: Bivariate Analyse der Differenz der logarithmierten IL-6-Konzentrationen zwischen Tag 1 und Tag 2 und des APACHE II-Scores: IL-6: ln(Tag 1) – ln(Tag 2)								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis	p-Wert	Hazard- Ratio	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis
IL-6	-0,016310	0,143520	-0,297609	0,264989	0,909500	0,983822	0,742591	1,303417
APACHE II*	0,05399	0,021280	0,012281	0,095699	0,011200	1,055474	1,012357	1,100428
102 Pat., 36 Events								

Tabelle 13: Bivariate Analyse: Differenz der logarithmierten IL-6-Konzentration zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Bivariate Analyse der Differenz der PCT-Konzentrationen zwischen Tag 1 und Tag 2 und des APACHE II-Scores: PCT: Tag 1 – Tag 2								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis	p-Wert	Hazard- Ratio	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis
PCT	-0,002870	0,004440	-0,011572	0,005832	0,519000	0,997134	0,988494	1,005849
APACHE II*	0,051050	0,022090	0,007754	0,094346	0,020900	1,052376	1,007784	1,098940
105 Pat., 37 Events								

Tabelle 14: Bivariate Analyse: Differenz der PCT-Konzentration zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II

Sterberisiko: Bivariate Analyse der Differenz der HLA-DR-Expression zwischen Tag 1 und Tag 2 und des APACHE II-Scores: HLA-DR: Tag 2 – Tag 1								
Parameter	Effektschätzer	Standardfehler	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis	p-Wert	Hazard- Ratio	95 % Konfi- denz- intervall von	95 % Konfi- denz- intervall bis
HLA-DR	-0,000000452	0,0000177	-0,0000351	0,0000342	0,979600	0,9999995	0,999965	1,000034
APACHE II*	0,06045	0,022230	0,0168792	0,1040208	0,006500	1,062314	1,017022	1,109624
99 Pat., 33 Events								

Tabelle 15: Bivariate Analyse: Differenz der HLA-DR-Expression zwischen Tag 1 und Tag 2 und APACHE II

4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersucht die drei Laborparameter IL-6, PCT und HLA-DR-Expression auf Monozyten hinsichtlich ihrer Eignung für eine Prognose des Krankheitsverlaufs und einer frühzeitigen Risikostratifizierung.

4.1 Korrelation mit dem Krankheitsverlauf

Die Notwendigkeit für eine verbesserte, frühzeitige und sichere Überwachung des Krankheitsverlaufes bei Patienten mit schweren Infektionen ergibt sich aus dem Zusammenhang zwischen schneller, adäquater Therapie und verbesserter Überlebenschance. In der Realität ist jedoch meist nur eine kalkulierte initiale Therapie möglich, die nach klinischen und mikrobiologischen Gesichtspunkten häufig erst nach 48 bis 96 Stunden angepasst werden kann. Mit dem Ziel, den Krankheitsverlauf möglichst früh zu überwachen, wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen einer spezifischen Veränderung definierter Parameter (Abnahme der IL-6- und PCT-Konzentration, Anstieg der HLA-DR-Expression) und einer klinischen Besserung des Patienten (gemessen mit dem SOFA-Score) im Krankheitsverlauf zu finden. Es liegt hierbei die Vorstellung zu Grunde, dass Veränderungen auf immunologischer Ebene einer klinisch messbaren Abnahme oder Zunahme der Krankheitsschwere vorausgehen. Hierzu wurden die Veränderungen der IL-6- und PCT-Konzentration sowie der HLA-DR-Expression auf Monozyten von Tag eins auf Tag zwei (d1-d2), von Tag eins auf Tag drei (d1-d3) und von Tag zwei auf Tag drei (d2-d3) in Beziehung gesetzt zu einer Abnahme des SOFA-Scores von Tag eins auf das Maximum der Tage drei bis fünf um mindestens drei Punkte. Ziel war es zu überprüfen, ob die Ausprägung des SOFA-Scores (Abfall um 3 Punkte: ja oder nein) innerhalb der ersten fünf Tage mit einer gerichteten Veränderung von IL-6, PCT und HLA-DR korreliert. Der SOFA-Score wurde als Bezugsgröße gewählt, da er ein Morbiditätsscore ist, mit dem der klinische Zustand des Patienten quantifiziert werden kann. Da sich klinisch ein Ansprechen auf eine Therapie meist erst nach 48 - 96 Stunden zeigt, wurde in der vorliegenden Arbeit ein Absinken des SOFA-Scores um mindestens 3 Punkte an den Tagen drei bis fünf gegenüber Tag eins gefordert, um sicher von einer eindeutigen und anhaltenden klinischen Besserung sprechen zu können.

4.1.1 Interleukin 6

Für IL-6 konnte bzgl. der reinen Richtung der Parameterveränderung von Tag eins auf Tag zwei ein p-Wert von 0,1400 berechnet werden. Ansonsten fanden sich p-Werte zwischen 0,2846 und 0,8794. Hier fanden sich damit weder statistisch signifikante Zusammenhänge, noch statistische Trends.

Im Gegensatz dazu konnte die Forschergruppe um Igonin zeigen, dass sich IL-6 bei Patienten mit schwerer ambulant erworbener Pneumonie dazu eignet, die Wirksamkeit der empirisch begonnenen Antibiotikatherapie frühzeitig zu bewerten (27). Zudem konnten Oda und Kollegen eine Assoziation der IL-6-Konzentration mit dem SOFA-Score nachweisen (48).

Ein Erklärungsansatz für diese Diskrepanz ist, dass sich die untersuchten Fragestellungen unterscheiden, was einen direkten Vergleich erschwert. Igonin und Kollegen setzten IL-6 zwar in Beziehung zu einem klinischen Ansprechen auf eine begonnene kalkulierte Antibiotikatherapie bei ambulant erworbener Pneumonie, dies wurde jedoch nicht anhand des SOFA-Scores, sondern über eine Veränderung der klinischen Parameter Temperatur, Blutdruck und Herzfrequenz bestimmt. Oda und Kollegen wiederum haben an 20 von insgesamt 40 Patienten mit Sepsis, schwerer Sepsis bzw. septischem Schock gezeigt, dass es durchschnittlich 2,5 Tage, nachdem der maximale IL-6-Wert gemessen wurde, zu einem maximalen SOFA-Wert kam. Der Verlauf der SOFA-Werte, insbesondere eine Abnahme des SOFA-Scores und ob IL-6 dazu korrelierte, wurde hingegen nicht untersucht.

4.1.2 Procalcitonin

Für eine wie auch immer geartete Abnahme von PCT ließen sich von Tag eins auf Tag zwei bzw. von Tag eins auf Tag drei p-Werte von 0,1470 bzw. 0,1379 finden. Ansonsten fanden sich p-Werte zwischen 0,3496 und 0,9511. Folglich zeigte sich weder ein statistisch signifikanter Zusammenhang, noch ein statistischer Trend.

Dies steht im Widerspruch zu einer Studie von Meisner und Kollegen, in der 40 Patienten mit SIRS oder Sepsis beobachtet wurden. Hier zeigte sich eine Assoziation von PCT mit dem SOFA-Score. Höhere PCT-Werte waren mit einem höheren SOFA-Score verbunden (39). Auch Luzzani und Kollegen fanden in einer Untersuchung an 70 Pati-

enten, dass PCT eine gute Korrelation mit der Schwere der Sepsis-Erkrankung als auch mit dem SOFA-Score zeigte (35).

Diese Ergebnisse sind jedoch nur eingeschränkt mit den in dieser Studie gewonnen Daten vergleichbar. Zunächst war die von Meisner und Kollegen gezeigte Korrelation zwischen PCT und dem SOFA-Score nur schwach ($r=0,20$). Diese Korrelation wurde zudem jeweils auf den gleichen Tag bezogen und nicht wie in der vorliegenden Untersuchung auf unterschiedliche Tage. Auch Luzzani und Kollegen verglichen SOFA-Scores und PCT-Werte eines gleichen Tages. Ein möglicher Zusammenhang über mehrere Tage wurde von beiden Forschergruppen nicht untersucht.

4.1.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten

Die statistische Analyse der Daten ergab keine signifikanten Zusammenhänge. Gewöhnlich wird jedoch bei p-Werten von 0,05 - 0,1 von einem statistischen Trend gesprochen. Von daher besteht hier ein statistischer Trend, wonach ein wie auch immer gearteter Anstieg der HLA-DR-Expression auf Monozyten von Tag eins auf Tag drei einen Hinweis auf eine Besserung des klinischen Zustandes des Patienten und damit indirekt auf die Wirksamkeit der aktuellen Therapie gibt ($p=0,0923$). Der Effektschätzer wurde mit 0,854400, das 95%-Konfidenzintervall mit -0,140496 bis 1,849296 berechnet. Das bedeutet, dass sich der wahre Effektschätzer mit einer 95-prozentigen Wahrscheinlichkeit zwischen -0,140496 und 1,849296 befindet. Da der weitaus größere Anteil des Intervalls > 0 ist, wäre hier eine Studie mit einem größeren Patientenkollektiv sinnvoll. So würde das Konfidenzintervall verkleinert und es könnte die Frage der statistischen Signifikanz möglicherweise abschließend beantwortet werden. Da dies die erste Untersuchung ist, die die HLA-DR-Expression auf Monozyten mit dieser Fragestellung untersucht, ist ein Vergleich mit anderen Studien nicht möglich.

4.2 Risikostratifizierung

Eine frühe Risikostratifizierung könnte zum Einen dazu dienen, bzgl. ihres Risikoprofils homogene Studienkollektive für zukünftige wissenschaftliche Fragestellungen zu finden. Zum Anderen könnte eine Beurteilung der Behandlungsqualität eines Zentrums vorgenommen werden, indem das prognostizierte Sterberisiko mit dem tatsächlichen Sterberisiko verglichen wird.

4.2.1 Interleukin 6

Die Überprüfung der Eignung der IL-6-Konzentration zur frühzeitigen Risikostratifizierung hat ergeben, dass es einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Sterberisiko und der logarithmierten IL-6-Konzentration an Tag zwei gibt ($p=0,0148$). Je höher die IL-6-Konzentration an Tag zwei war, desto höher war das Risiko zu versterben.

Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen mehrerer anderer Forschungsgruppen. Hack und Kollegen untersuchten 37 Patienten mit Sepsis bzw. septischem Schock. Die höchsten IL-6-Konzentrationen traten bei Patienten mit septischem Schock auf. IL-6 war bei später Verstorbenen stärker erhöht, besonders deutlich bei Patienten mit septischem Schock (20). Calandra und Kollegen untersuchten 70 Patienten mit septischem Schock. IL-6 war bei später Verstorbenen stärker erhöht, jedoch konnte kein Cut-Off-Wert bestimmt werden. Die IL-6-Konzentration zum Studienbeginn korrelierte invers mit der Überlebenszeit (9). Damas und Kollegen konnten an 40 kritisch kranken, chirurgischen Patienten nachweisen, dass ein Anstieg der IL-6-Konzentration auf über 1000 pg/ml signifikant mit einem stark erhöhten Sterberisiko verbunden war (13). Presterl und Kollegen untersuchten 35 Patienten mit Sepsis. Die IL-6-Konzentrationen waren bei später Verstorbenen von Tag zwei bis sieben signifikant höher als bei Überlebenden, bei denen es zudem im Verlauf zu einer stetigen, signifikanten Abnahme der IL-6-Konzentrationen kam, wohingegen sich die IL-6-Konzentrationen bei später Verstorbenen nicht signifikant veränderten (51).

Es gab allerdings auch Studien, in denen sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem Sterberisiko finden ließ. Selberg und Kollegen konnten zwar an 33 Patienten mit Sepsis bzw. SIRS nachweisen, dass bei Sepsis signifikant höhere IL-6-Konzentrationen bestanden als bei SIRS. Jedoch fand sich keine Assoziation von IL-6

mit dem Outcome (55). Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie wurde kein Hazard-Ratio berechnet, sondern die durchschnittliche IL-6-Konzentration von Überlebenden und Verstorbenen verglichen und eine ROC-Kurve berechnet. Zudem fand die Blutabnahme direkt nach Aufnahme der Patienten in das Krankenhaus statt und nicht wie in der vorliegenden Untersuchung in den ersten Tagen nach Einschluss in die Studie. Darüberhinaus war die Studienpopulation mit 33 Patienten deutlich kleiner.

Wunder und Kollegen untersuchten 33 an schwerer Sepsis erkrankte Patienten. Es fand sich zwischen Überlebenden und Verstorbenen kein signifikanter Unterschied bzgl. der IL-6-Konzentrationen (61). Möglicherweise lassen sich die abweichenden Ergebnisse mit der kleineren Studienpopulation von nur 33 untersuchten Patienten erklären. Zudem wurde auch hier kein Hazard-Ratio berechnet, sondern die mittlere IL-6-Konzentration von Überlebenden und Verstorbenen verglichen.

In den vorliegenden Berechnungen zeigte sich des Weiteren für den APACHE II-Score eine statistisch signifikante Assoziation mit dem Sterberisiko ($p=0,0098$). In der daraufhin durchgeführten bivariaten Analyse mit IL-6 ergab sich zwar ein Anstieg der p-Werte für IL-6 bzw. den APACHE II-Score ($p=0,0814$ bzw. $0,0587$), so dass hier nur noch von einem statistischen Trend gesprochen werden kann. Da der Anstieg jedoch nur moderat war, scheinen beide Faktoren trotzdem unabhängig voneinander mit dem Sterberisiko verknüpft zu sein.

Die Ergebnisse für IL-6 sollten weiterhin in multizentrischen Studien mit größeren Studienkollektiven überprüft werden. So könnten einerseits Cut-Off-Werte definiert werden. Andererseits könnte damit aber auch dem behandelnden Kliniker ein praktikables Werkzeug an die Hand gegeben werden.

4.2.2 Procalcitonin

Für PCT fand sich kein statistisch signifikanter oder trendmäßiger Zusammenhang mit dem Sterberisiko ($p=0,2248$).

Dies steht im Einklang mit Untersuchungen von Selberg und Kollegen an 22 Patienten mit Sepsis sowie elf Patienten mit SIRS. Sie konnten am Tag der Diagnose keinen signifikanten Unterschied zwischen Überlebenden und später Verstorbenen feststellen (55). Harbarth und Kollegen untersuchten im Jahre 2001 78 Patienten mit SIRS und vermuteter Infektion. Zwar unterschieden sich die mittleren PCT-Konzentrationen der

Überlebenden von den Verstorbenen. In der Berechnung des Hazard-Ratios zeigte sich jedoch keine signifikante Risikoerhöhung bei erhöhten PCT-Konzentrationen (21).

Auf der anderen Seite konnten Forschergruppen jedoch statistisch signifikante Zusammenhänge nachweisen. Clec'h und Kollegen verglichen die Krankheitsverläufe von 62 Patienten mit septischem Schock mit denen von 13 Patienten mit kardiogenem Schock. Die PCT-Konzentration an Tag eins war bei Patienten mit septischem Schock signifikant erhöht. Ein Cutoff-Wert von 1 ng/ml hatte hier eine Sensitivität von 95 % und eine Spezifität von 54 %, um Patienten mit septischem Schock von solchen ohne septischen Schock zu trennen. Bei Patienten mit septischem Schock war die PCT-Konzentration zudem an allen Messpunkten bei später Verstorbenen erhöht. Ein Cutoff-Wert von 6 ng/ml an Tag eins hatte diesbezüglich eine Sensitivität von 87,5 % und eine Spezifität von 45 % (11). Möglicherweise sind die abweichenden Ergebnisse durch unterschiedliche statistische Berechnungen erklärbar. In der Studie von Clec'h und Kollegen wurde die mediane PCT-Konzentration zwischen Überlebenden und Verstorbenen verglichen, wohingegen in der vorliegenden Untersuchung das Hazard-Ratio berechnet wurde.

Clec'h und Kollegen prüften des Weiteren die Eignung von PCT zur Sepsisdiagnostik bei chirurgischen und internistischen Patienten. Es wurden insgesamt 143 Patienten eingeschlossen. Für internistische Patienten konnte ein Cutoff-Wert von 6,00 ng/ml bestimmt werden, der 76 % Sensitivität und 72,7 % Spezifität zur Unterscheidung zwischen Überlebenden und Verstorbenen hatte. Für chirurgische Patienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied der PCT-Höhe an Tag eins zwischen Überlebenden und später Verstorbenen (12). Die Zusammensetzung der Patientenkollektive könnte den Unterschied zur vorliegenden Untersuchung erklären. Sowohl internistische als auch chirurgische Patienten wurden in die vorliegende Studie eingeschlossen und gingen gemeinsam in die statistischen Berechnungen ein, wohingegen sie in der Studie von Clec'h und Kollegen getrennt betrachtet wurden. Möglicherweise hätte sich bei alleiniger Betrachtung internistischer Patienten ebenfalls ein statistisch signifikantes Ergebnis ergeben. Zudem unterscheiden sich wieder die in den beiden Untersuchungen verwendeten statistischen Methoden.

Wunder und Kollegen untersuchten den Krankheitsverlauf von 33 Patienten mit schwerer Sepsis. PCT war bei später Verstorbenen signifikant an Tag eins und drei nach Diagnosestellung erhöht. Die Verknüpfung mit dem Sterberisiko bestätigte sich für PCT und den APACHE III-Score auch in der multivariaten Analyse (61). In dieser Studie

wurden im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung an drei Messpunkten die PCT-Konzentrationen bestimmt. Nur an Tag eins und drei nach Diagnosestellung zeigte sich eine statistische Signifikanz. An Tag zwei zeigte sich wie in der vorliegenden Untersuchung ein nicht signifikantes Ergebnis. Möglicherweise hätte in der vorliegenden Untersuchung durch Hinzunahme weiterer Messpunkte ebenfalls ein signifikantes Ergebnis errechnet werden können. Darüberhinaus unterscheiden sich ebenfalls die statistischen Methoden.

Lee und Kollegen fanden in ihren Untersuchungen an 95 Patienten mit SIRS, dass für PCT von Tag eins bis sieben signifikant höhere Konzentrationen bei Verstorbenen vorlagen. Die ROC für die Berechnung der Mortalität betrug 0,69, wohingegen die ROC beim APACHE III-Score mit 0,915 berechnet wurde (32). Diese Studie unterscheidet sich zunächst in den Einschlusskriterien von der vorliegenden Untersuchung. Es wurden Patienten mit SIRS aufgenommen, wohingegen in der vorliegenden Studie eine Sepsis, eine schwere Sepsis oder ein septischer Schock vorliegen musste. Darüberhinaus unterscheiden sich die statistischen Berechnungen. So wurden in der Studie von Lee und Kollegen ROC-Kurven berechnet, wohingegen in der vorliegenden Studie das Hazard-Ratio berechnet wurde.

Zusammengefasst unterscheidet sich die vorliegende Untersuchung von den bisherigen Arbeiten teilweise durch die Wahl der Beobachtungszeiträume, die statistische Methodik und die Einschlusskriterien, was eine Vergleichbarkeit erschwert.

4.2.3 HLA-DR-Expression auf Monozyten

Für die HLA-DR-Expression ergab sich ebenfalls mit einem p-Wert von 0,3781 kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem Mortalitätsrisiko.

Die fehlende Assoziation der HLA-DR-Expression mit dem Mortalitätsrisiko steht im Einklang mit Untersuchungen von Perry und Mitarbeitern. Sie konnten in einer Studie an 70 septischen Patienten und 45 Kontrollpersonen keinen Zusammenhang zwischen einem niedrigen Anteil an HLA-DR-positiven Monozyten bzw. einer niedrigen medianen Fluoreszenzintensität und einer erhöhten Mortalität nachweisen. Auch fanden sie keine Verknüpfung einer niedrigen HLA-DR-Expression mit erhöhten APACHE II-Werten (50). Tschaikowsky und Mitarbeiter verglichen 23 Patienten, die postoperativ an schwerer Sepsis litten, mit 26 Patienten, die postoperativ einen unauffälligen Heilungsverlauf vorwiesen sowie mit 24 gesunden Kontrollpersonen bzgl. des Anteils

HLA-DR-positiver Monozyten und der mittleren HLA-DR-Expression je Monozyt. Es zeigte sich, dass mit dem Eintreten einer schweren Sepsis der Anteil an HLA-DR-positiven Monozyten abnahm. Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen Überlebenden und Verstorbenen. (57).

Gegensätzlich dazu gibt es allerdings auch einige Studien, die einen Zusammenhang mit dem Mortalitätsrisiko nachweisen konnten. Im Jahre 1990 untersuchten Hershman und Kollegen die HLA-DR-Expression an 60 traumatisierten Patienten. Es zeigte sich bei allen Patienten sowohl eine Reduktion des Anteils an HLA-DR-positiven Monozyten als auch der mittleren HLA-DR-Expression je Monozyt. Die Normalisierung war abhängig vom postoperativen Verlauf. War er unauffällig, dauerte die Normalisierung bis zu einer Woche. Bei septischen Patienten dauerte dies bis zu drei Wochen und bei Verstorbenen war es zuvor zu gar keiner Erholung der HLA-DR-Expression gekommen (23). Hier unterscheiden sich die gewählten Beobachtungszeiträume. Dies ist möglicherweise als Hinweis zu werten, dass der in der vorliegenden Studie gewählte Untersuchungszeitraum für eine Risikostratifizierung zu kurz war. Zudem wurde nicht das Hazard-Ratio berechnet, sondern ein Vergleich der mittleren HLA-DR-Expression bei Überlebenden und Verstorbenen durchgeführt.

Oberhoffer und Kollegen untersuchten unter anderem den Anteil HLA-DR-positiver Monozyten im Hinblick auf das Outcome an 242 Intensivpatienten. Hier konnte bzgl. der Unterscheidung zwischen Überlebenden und Verstorbenen eine AUC von 0,761 berechnet werden (47). Anders als in der vorliegenden Untersuchung wurde hier der Prozentsatz an HLA-DR-positiven Monozyten und nicht die durchschnittliche HLA-DR-Expression verwendet. Darüberhinaus wurde nicht jeweils der zweite Beobachtungstag, sondern ein zufällig bestimmter Beobachtungstag verwendet. Des Weiteren unterscheidet sich die statistische Methodik - so wurde eine AUC und kein Hazard-Ratio berechnet.

Hynninen und Kollegen untersuchten im Jahre 2003 die Prognosefähigkeit der HLA-DR-Expression bzgl. des Survivals bei 61 Patienten mit Sepsis. Es konnte gezeigt werden, dass der Anteil HLA-DR-positiver Monozyten bei Verstorbenen an Tag eins und zwei signifikant vermindert war. Die berechnete AUC betrug 0,667 für Tag eins und 0,700 für Tag zwei (26). In dieser Studie wurde zum Einen, anders als in der vorliegenden Untersuchung, statt der mittleren HLA-DR-Expression je Monozyt der Anteil HLA-DR-positiver Monozyten berücksichtigt. Darüberhinaus unterscheidet sich die statistische Methodik insofern, als nicht das Hazard-Ratio berechnet, sondern der mediane

Anteil HLA-DR-positiver Monozyten bei Überlebenden und Verstorbenen verglichen wurde, was die Vergleichbarkeit erschwert.

Monneret und Kollegen maßen den Anteil HLA-DR-positiver Monozyten bei 38 Patienten mit septischem Schock. Bei allen Patienten war dieser Anteil vermindert, jedoch am stärksten bei Verstorbenen (42). Auch in dieser Arbeit wurde, anders als in der vorliegenden Untersuchung, der Anteil HLA-DR-positiver Monozyten verwendet. Zudem wurden nur Patienten mit septischem Schock eingeschlossen. Außerdem wurde erneut der mediane Anteil von Überlebenden und Verstorbenen verglichen und nicht das Hazard-Ratio berechnet, was insgesamt eine Vergleichbarkeit erschwert.

Lekkou und Mitarbeiter betrachteten den klinischen Verlauf bei 30 Patienten mit schwerer Sepsis und bestimmten den Prozentsatz an HLA-DR-positiven Monozyten und die mittlere HLA-DR-Expression pro Monozyt. 13 Patienten überlebten und 17 verstarben während des Krankenhausaufenthaltes. Alle Studienpatienten hatten einen niedrigeren Prozentsatz an HLA-DR-positiven Monozyten sowie eine niedrigere HLA-DR-Expression als gesunde Kontrollpersonen. Die später verstorbenen Patienten wiesen am Tag der Aufnahme als auch an den Tagen 3, 13 und 17 signifikant niedrigere Anteile an HLA-DR-positiven Monozyten auf als die Überlebenden. Alle Patienten mit mehr als 40 % HLA-DR positiven Monozyten überlebten. Im Gegensatz dazu hatten alle Patienten, die später verstarben, weniger als 40 % HLA-DR-positive Monozyten zu allen Untersuchungszeitpunkten (33). Auch in dieser Studie wurde nicht das Hazard-Ratio berechnet, sondern Überlebende und Verstorbene bzgl. ihrer durchschnittlichen HLA-DR-Expression verglichen.

Monneret und Kollegen untersuchten 86 Patienten mit septischem Schock auf den Anteil HLA-DR-positiver Monozyten und die mittlere HLA-DR-Expression je Monozyt. An den Tagen drei und vier konnte ein signifikanter Unterschied bzgl. des Überlebens festgestellt werden. Dies bestätigte sich auch in der multivariaten Analyse (43). Zunächst unterscheiden sich die Einschlusskriterien der beiden Untersuchungen. Von Monneret und Kollegen wurden nur Patienten mit septischem Schock eingeschlossen, wohingegen in die vorliegende Studie auch Patienten mit Sepsis und schwerer Sepsis aufgenommen wurden. Des Weiteren wurde in der vorliegenden Studie Tag zwei bzw. die Entwicklung von Tag eins auf Tag zwei berücksichtigt. Möglicherweise ist das Ergebnis von Monneret und Kollegen als Hinweis zu werten, dass der in der vorliegenden Arbeit gewählte Beobachtungszeitraum zu kurz bemessen war. Darüberhinaus wurde

nicht das Hazard-Ratio berechnet, sondern erneut die durchschnittliche HLA-DR-Expression von Überlebenden und Verstorbenen verglichen.

Zusammenfassend lassen sich die abweichenden Ergebnisse der anderen Forschergruppen möglicherweise dadurch erklären, dass zum Einen die HLA-DR-Expression auf unterschiedliche Arten gemessen wurde. Es wurde einerseits der Anteil HLA-DR-positiver Monozyten, andererseits die mittlere Expression von HLA-DR je Monozyt bestimmt (22). In diesem Zusammenhang ist es wichtig zu erwähnen, dass das in der vorliegenden Arbeit verwendete BD Quantibrite HLA-DR/Monozyten Reagenz der Firma Becton Dickinson erst seit wenigen Jahren zur Verfügung steht (14). Zum Anderen unterscheidet sich die statistische Methodik zum Teil erheblich. So wurde in der vorliegenden Arbeit das Hazard-Ratio berechnet, wohingegen in den bisherigen Arbeiten die mittlere HLA-DR-Expression bzw. der mittlere Anteil HLA-DR-positiver Monozyten bei Überlebenden und Verstorbenen verglichen wurde. Darüber hinaus unterscheiden sich zum Teil die gewählten Beobachtungszeiträume und Einschlusskriterien sowie die Größe der Studienkollektive. Eine weitere Erklärung für die abweichenden Ergebnisse ist, dass die präanalytische Behandlung der Proben großen Einfluss auf die Stabilität der HLA-DR-Expression hat. Herzum und Kollegen belegten, dass die Auswertung der Blutprobe des Patienten innerhalb von zwei Stunden geschehen sollte, da es ansonsten zu einem Anstieg der HLA-DR-Expression je Monozyt kommen kann. Zudem sollte die Blutprobe direkt nach Gewinnung in Eiswasser gekühlt und anschließend bis zur Messung im Kühlschrank bei 4 °C gelagert werden (24). Dies wurde in der vorliegenden Untersuchung umgesetzt. In den Studien der anderen Autoren wurde dies nur zum Teil ausdrücklich beachtet, so z.B. von Monneret (2006) und von Hynninen. In anderen Studien jedoch, wie z.B. von Lekkou und Monneret (2004), findet sich hierzu keine Angabe.

4.3 Schlussfolgerung

Der Einsatz von laborchemischen Parametern bei Patienten mit Sepsis ist auf Grund der Komplexität und der bis zum jetzigen Zeitpunkt nur unzureichend erforschten Pathomechanismen dieser Erkrankung weiterhin schwierig. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit denen anderer Forschergruppen ist dadurch erschwert, dass zum Teil unterschiedliche laborchemische Messmethoden, statistische Methoden, Beobachtungszeiträume und unterschiedlich große Studienkollektive gewählt wurden.

Es konnten in der vorliegenden Untersuchung für den APACHE II - Score statistische Zusammenhänge bzgl. des Sterberisikos bestätigt werden, die auch schon vorher durch andere Forschergruppen gezeigt wurden. Ebenso konnte für IL-6 eine statistisch signifikante Assoziation mit dem Sterberisiko nachgewiesen werden.

Darüber hinaus fand sich ein statistischer Trend, wonach die Entwicklung der HLA-DR-Expression auf Monozyten innerhalb der ersten 48 Stunden mit dem weiteren klinischen Verlauf des Patienten verknüpft ist ($p=0,0923$). Falls sich dieser Trend in einer größeren Studie als statistisch signifikant erweisen sollte, könnte 48 Stunden nach Erkrankungsbeginn eine Aussage über den Krankheitsverlauf getroffen werden. Dies könnte als Hinweis für den Erfolg einer begonnenen, kalkulierten Antibiotikatherapie oder einer operativen Herdsanierung gewertet werden oder einen Wechsel des Therapie-regimes nahe legen.

Allerdings muss einschränkend erwähnt werden, dass der Zeitraum von 48 Stunden schon mit anderen Untersuchungsmethoden deutlich unterboten werden kann. Es ist z.B. mittlerweile möglich, mittels PCR-basierter Analyser schon nach sechs Stunden Informationen über den Erreger zu erhalten und falls notwendig schon nach dieser kurzen Zeit das Therapieregime anzupassen. Im Übrigen ist es meist auch mit den herkömmlichen mikrobiologischen Nachweismethoden schon nach 48 Stunden möglich, einen Erreger samt Antibiotogramm zu bestimmen oder auch klinisch ein Ansprechen oder Nichtansprechen eines Patienten auf eine Therapie zu bewerten.

Grundsätzlich kann jedoch gesagt werden, dass es Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Kinetik der HLA-DR-Expression auf Monozyten mit dem späteren Krankheitsverlauf gibt. Weitere Studien müssen nun zunächst zeigen, ob sich dieser Zusammenhang bestätigt und falls dies so ist, ob er zu einer frühzeitigen Evaluation der eingesetzten Therapie geeignet ist und so das Outcome der Patienten verbessern kann.

5. Zusammenfassung

Diese Studie untersuchte an 111 Patienten mit Sepsis den Zusammenhang der zeitlichen Kinetik von Interleukin 6, Procalcitonin und der HLA-DR-Expression auf Monozyten mit dem Krankheitsverlauf sowie ihre Eignung zu einer frühen Risikostratifizierung. Es zeigte sich in den aufgestellten logistischen Regressionsmodellen ein statistischer Trend, wonach die HLA-DR-Expression auf Monozyten nach 48 Stunden Hinweise auf die weitere klinische Entwicklung des Patienten und damit möglicherweise auf die Wirksamkeit der aktuellen Sepsistherapie geben kann ($p=0,0923$). Es sind hier jedoch weitere multizentrische Studien mit größeren Studienkollektiven nötig, um eine statistische Signifikanz und einen positiven Effekt auf das Outcome nachzuweisen. Für PCT und IL-6 zeigten sich diesbezüglich weder eine statistische Signifikanz noch ein statistischer Trend. Des Weiteren bestätigte sich in den erstellten Cox-Regressionsmodellen die schon durch andere Forschergruppen nachgewiesene Eignung des APACHE II-Scores zur frühen Risikostratifizierung ($p=0,0098$). Für IL-6 konnte ebenfalls eine solche Assoziation mit dem Sterberisiko gezeigt werden ($p=0,0148$). Für PCT und HLA-DR war keine Assoziation mit dem Sterberisiko nachzuweisen.

Literaturverzeichnis

1. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992; 20: 864-74.
2. Aikawa N, Fujishima S, Endo S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, Kushimoto S, Yukioka H, Kato N, Totsuka K, Kikuchi K, Ikeda T, Ikeda K, Harada K, Satomura S. Multicenter prospective study of procalcitonin as an indicator of sepsis. *J Infect. Chemother.* 2005; 11: 152-9.
3. Angus, D. C., Linde-Zwirble, W. T., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J., and Pinsky, M. R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Critical Care Medicine* 29, 1303-1310. 2001.
Ref Type: Journal (Full)
4. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993; 341: 515-8.
5. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
6. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 580-8.
7. Brunkhorst FM. [Epidemiology, economy and practice -- results of the German study on prevalence by the competence network sepsis (SepNet)]. *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 2006; 41: 43-4.
8. Budelmann G. [Hugo Schottmuller, 1867-1936. The problem of sepsis]. *Internist (Berl)* 1969; 10: 92-101.
9. Calandra T, Gerain J, Heumann D, Baumgartner JD, Glauser MP. High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines. The Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. *Am J Med.* 1991; 91: 23-9.
10. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M, Muller B. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet.* 2004; 363: 600-7.
11. Clec'h C, Ferriere F, Karoubi P, Fosse JP, Cupa M, Hoang P, Cohen Y. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2004; 32: 1166-9.

12. Clec'h C, Fosse JP, Karoubi P, Vincent F, Chouahi I, Hamza L, Cupa M, Cohen Y. Differential diagnostic value of procalcitonin in surgical and medical patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2006; 34: 102-7.
13. Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, Lamy M. Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity. *Ann.Surg.* 1992; 215: 356-62.
14. Docke WD, Hoflich C, Davis KA, Rottgers K, Meisel C, Kiefer P, Weber SU, Hedwig-Geissing M, Kreuzfelder E, Tschentscher P, Nebe T, Engel A, Monneret G, Spittler A, Schmolke K, Reinke P, Volk HD, Kunz D. Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR expression: a multicenter standardized study. *Clin Chem.* 2005; 51: 2341-7.
15. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: A trend analysis from 1993 to 2003*. *Crit Care Med.* 2007.
16. Ferencik M, Rovenský J, Mat'ha V, Herold M. *"Kompendium der Immunologie"*. SpringerWienNewYork, 2006: pp. 37-42.
17. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 589-96.
18. Fumeaux T, Pugin J. Is the measurement of monocytes HLA-DR expression useful in patients with sepsis? *Intensive Care Med.* 2006; 32: 1106-8.
19. Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med.* 2003; 31: 2742-51.
20. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJ, Eerenberg-Belmer AJ, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood.* 1989; 74: 1704-10.
21. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 2001; 164: 396-402.
22. Haveman JW, Muller Kobold AC, Tervaert JW, van den Berg AP, Tulleken JE, Kallenberg CG, The TH. The central role of monocytes in the pathogenesis of sepsis: consequences for immunomonitoring and treatment. *Neth.J.Med.* 1999; 55: 132-41.
23. Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, Davidson PF, Polk HC, Jr. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *Br.J.Surg.* 1990; 77: 204-7.
24. Herzum I EKRHHW. HLA-DR monitoring of septic patients: the preanalytical issue. *Clin Chem.* 2005; S6: A75.

25. Hoflich C, Volk HD. Immunomodulation in sepsis. *Chirurg* 2002; 73: 1100-4.
26. Hynninen M, Pettila V, Takkunen O, Orko R, Jansson SE, Kuusela P, Renkonen R, Valtonen M. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. *Shock* 2003; 20: 1-4.
27. Igonin AA, Armstrong VW, Shipkova M, Lazareva NB, Kukes VG, Oellerich M. Circulating cytokines as markers of systemic inflammatory response in severe community-acquired pneumonia. *Clin Biochem.* 2004; 37: 204-9.
28. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, Pettila V, Parviainen I, la-Kokko TI, Kolho E, Rintala EM. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive Care Med.* 2007; 33: 435-43.
29. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985; 13: 818-29.
30. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Kumar A, Cheang M. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006; 34: 1589-96.
31. Le G, Jr., Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *Journal of the American Medical Association* 1993; 270: 2957-63.
32. Lee YJ, Park CH, Yun JW, Lee YS. Predictive comparisons of procalcitonin (PCT) level, arterial ketone body ratio (AKBR), APACHE III score and multiple organ dysfunction score (MODS) in systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Yonsei Med J.* 2004; 45: 29-37.
33. Lekkou A, Karakantza M, Mouzaki A, Kalfarentzos F, Gogos CA. Cytokine production and monocyte HLA-DR expression as predictors of outcome for patients with community-acquired severe infections. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 2004; 11: 161-7.
34. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003; 31: 1250-6.
35. Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, Rungtatscher A, Pavan R, Merlini A. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med.* 2003; 31: 1737-41.
36. Marshall JC, Maier RV, Jimenez M, Dellinger EP. Source control in the management of severe sepsis and septic shock: an evidence-based review. *Crit Care Med.* 2004; 32: S513-S526.
37. Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr.Opin.Crit Care.* 2005; 11: 473-80.

38. Meisner M, Muller V, Khakpour Z, Toegel E, Redl H. Induction of procalcitonin and proinflammatory cytokines in an anhepatic baboon endotoxin shock model. *Shock* 2003; 19: 187-90.
39. Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, Schmidt J. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care (Lond)*. 1999; 3: 45-50.
40. Members of the ACCP / SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992; 20: 864-74.
41. Moerer O, Schmid A, Hofmann M, Herklotz A, Reinhart K, Werdan K, Schneider H, Burchardi H. Direct costs of severe sepsis in three German intensive care units based on retrospective electronic patient record analysis of resource use. *Intensive Care Med*. 2002; 28: 1440-6.
42. Monneret G, Finck ME, Venet F, Debard AL, Bohe J, Bienvenu J, Lepape A. The anti-inflammatory response dominates after septic shock: association of low monocyte HLA-DR expression and high interleukin-10 concentration. *Immunol.Lett*. 2004; 95: 193-8.
43. Monneret G, Lepape A, Voirin N, Bohe J, Venet F, Debard AL, Thizy H, Bienvenu J, Gueyffier F, Vanhems P. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive Care Med*. 2006: ..
44. Moreno RP, Metnitz B, Adler L, Hoechtl A, Bauer P, Metnitz PG. Sepsis mortality prediction based on predisposition, infection and response. *Intensive Care Med*. 2008; 34: 496-504.
45. Nobre V, Harbarth S, Graf JD, Rohner P, Pugin J. Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial. *Am.J.Respir.Crit Care Med*. 2008; 177: 498-505.
46. Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Junker U, Jager L, Reinhart K. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J.Lab Clin Med*. 1999; 134: 49-55.
47. Oberhoffer M, Vogelsang H, Russwurm S, Hartung T, Reinhart K. Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. *Clin.Chem.Lab Med*. 1999; 37: 363-8.
48. Oda S, Hirasawa H, Shiga H, Nakanishi K, Matsuda K, Nakamua M. Sequential measurement of IL-6 blood levels in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS)/sepsis. *Cytokine* 2005; 29: 169-75.
49. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med*. 2003; 31: 2332-8.

50. Perry SE, Mostafa SM, Wenstone R, Shenkin A, McLaughlin PJ. Is low monocyte HLA-DR expression helpful to predict outcome in severe sepsis? *Intensive Care Med.* 2003; 29: 1245-52.
51. Presterl E, Staudinger T, Pettermann M, Lassnigg A, Burgmann H, Winkler S, Frass M, Graninger W. Cytokine profile and correlation to the APACHE III and MPM II scores in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 825-32.
52. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *Journal of the American Medical Association* 1995; 273: 117-23.
53. Rau B, Steinbach G, Baumgart K, Gansauge F, Grunert A, Beger HG. The clinical value of procalcitonin in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. *Intensive Care Med.* 2000; 26 Suppl 2: S159-S164.
54. Reinhart K, Brunkhorst F, Bone H, Gerlach H, Grundling M, Kreymann G, Ku-jath P, Marggraf G, Mayer K, Meier-Hellmann A, Peckelsen C, Putensen C, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stuber F, Weiler N, Welte T, Werdan K. [Diagnosis and therapy of sepsis: guidelines of the German Sepsis Society Inc. and the German Interdisciplinary Society for Intensive and Emergency Medicine]. *Anaesthesist* 2006; 55 Suppl 1: 43-56.
55. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, Bautsch W, Kohl J. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* 2000; 28: 2793-8.
56. Song M, Kellum JA. Interleukin-6. *Crit Care Med.* 2005; 33: S463-S465.
57. Tschaikowsky K, Hedwig-Geissing M, Schiele A, Bremer F, Schywalsky M, Schuttler J. Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of mononuclear histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients. *Crit Care Med.* 2002; 30: 1015-23.
58. Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you.. *Crit Care Med.* 1997; 25: 372-4.
59. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De MA, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996; 22: 707-10.
60. Wolk K, Docke W, von B, V, Volk H, Sabat R. Comparison of monocyte functions after LPS- or IL-10-induced reorientation: importance in clinical immunoparalysis. *Pathobiology* 1999; 67: 253-6.

61. Wunder C, Eichelbronner O, Roewer N. Are IL-6, IL-10 and PCT plasma concentrations reliable for outcome prediction in severe sepsis? A comparison with APACHE III and SAPS II. *Inflamm.Res.* 2004; 53: 158-63.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Florian Schumann, * 23.01.1981 in Siegburg, evangelisch

Berufliche Tätigkeit

- 08/2009 - heute Assistenzarzt in der Klinik für Innere Medizin am St. Vinzenz
Krankenhaus Hanau
- 01/2009 - 05/2009 Assistenzarzt in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie
am Klinikum Oldenburg

Studium

- 06/2008 - 12/2008 Arbeit an meiner Dissertation, wurde später fortgesetzt
(06-08/2009)
- 10/2001 - 05/2008 Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg
 - 2. Staatsexamen bestanden am 29.05.2008 (sehr gut)
 - Ärztliche Vorprüfung bestanden am 02.04.2004 (gut)
 - PJ: Innere Medizin und Chirurgie im DRK-Krankenhaus Kassel,
 - Wahlfach Anästhesie im Uni-Klinikum Marburg
 - Famulaturen: Unfallchirurgie, Anästhesie, Allgemeinmedizin,
 - Neurologie
 - Aushilfspflegekraft beim DRK-Marburg (07/2003 - 08/2004)

Zivildienst

- 2000 - 2001 St. Martinus-Hospital Olpe (Krankenpflege)

Schulbildung

- 1991 - 2000 St.-Franziskus-Gymnasium Olpe - Abitur
- 1987 - 1991 Katholische Grundschule Rothemühle

Akademische Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren in Marburg die Damen/Herren Baum, Baumann, Boudriot, Czubayko, Gerdes, Grzeschik, Gudermann, Jeck, Jungclas, Kill, Krause, Krieg, Kroll, Lenz, Lohoff, Maier, Max, Moll, Müller, Oertel, Radsak, Remschmidt, Renz, Richter, Schäfer, Schmidt, Schneider, Schwella, Schwerk, Vogelmeier, von Garrel, von Löw, Weiler, Werner, Wulf.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Max für die sehr gute Betreuung danken. Er hat mir dieses interessante Thema zur Verfügung gestellt und war jederzeit für Fragen ansprechbar. Weiterhin danke ich Frau Dr. med. Herzum für die Anleitung und Unterstützung bei den laborchemischen Messungen. Herrn Prof. Dr. med. Wulf danke ich für die Möglichkeit, in seiner Abteilung eine Doktorarbeit durchführen zu können. Des Weiteren möchte ich mich an dieser Stelle auch bei Frau Hastedt für die professionelle technische Auskunft und Hilfsbereitschaft bedanken. Darüber hinaus möchte ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Müller für die sehr gute statistische Betreuung danken. Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern sowie bei meiner Freundin und ihrer Familie für ihre liebevolle Unterstützung und Motivation auf diesem Weg bedanken.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Untersuchung zur Korrelation von HLA-DR-Expression, Procalcitonin und Interleukin 6 mit dem Krankheitsverlauf sowie ihrer Eignung zur Risikostratifizierung bei Patienten mit Sepsis“ in der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Martin Max mit Unterstützung durch Frau Dr. med. Ileana Herzum aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie sowie Molekulare Diagnostik und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Hans-Helge Müller aus dem Institut für medizinische Biometrie und Epidemiologie der Philipps Universität Marburg ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.